Clinique Saint-Luc
Bouge

SQA Vision, le jeu en vaut-il le flagelle?

Dr Henry Paridaens

Assistant Laboratoire Clinique Saint-Luc Bouge

INTRODUCTION

- Malgré les controverses sur son utilité clinique, l'analyse du sperme= une des valeurs prédictives les plus importantes pour l'infertilité masculine
  - WHO: problème chez l'homme: 43% des couples infertiles

- Critères conventionnels pour qualité du sperme
  - Volume éjaculat
  - Concentration en SZ
  - Pourcentage de motilité
  - Pourcentage de morphologie normale

Un peu de sémantique …

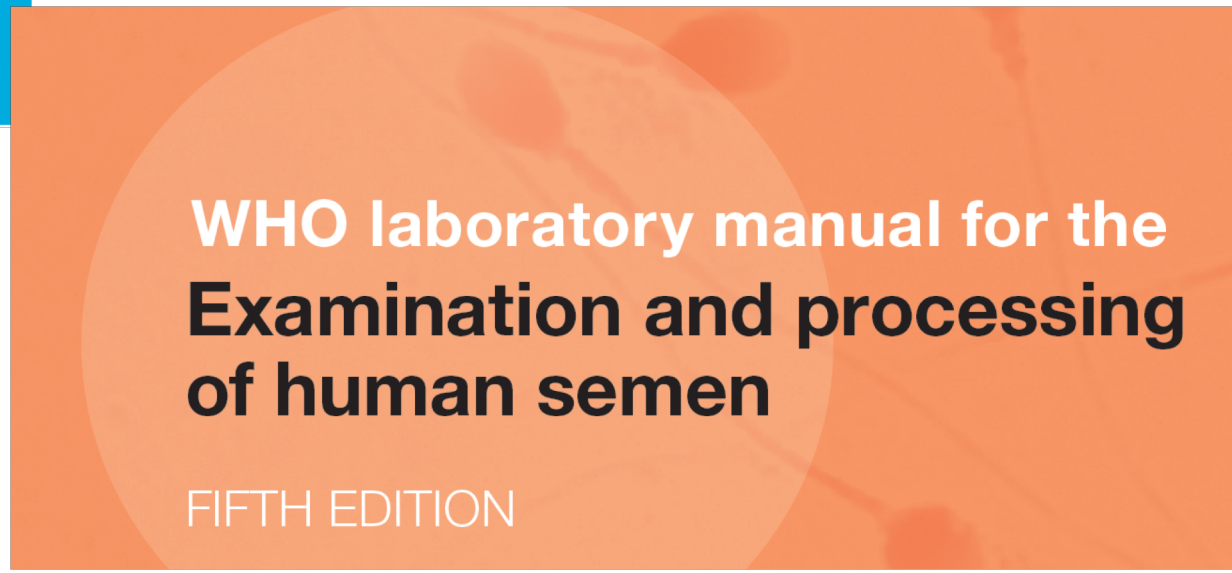
- Spermatocytogramme: Analyse **morphologique** des SZ humains
  - % de SZ morphologiquement normaux
  - Détermination incidence diverses anomalies morphologiques
- Spermogramme : volume, pH, viscosité, numération, dosages (fructose, zinc, alpha-glucosidase, ….)
- TZI (teratozoospermie index) ou IAM (index des anomalies multiples)
- Mobilité
  - *Mobilité progressive (PR):* SZ se déplaçant activement, soit linéairement soit en cercle large (qu'importe la vitesse)
  - *Mobilité non progressive (NP):* toutes autres formes de pattern de mobilité en absence de progression
  - *Immobilité (IM):* pas de mouvement

WHO 5th edition

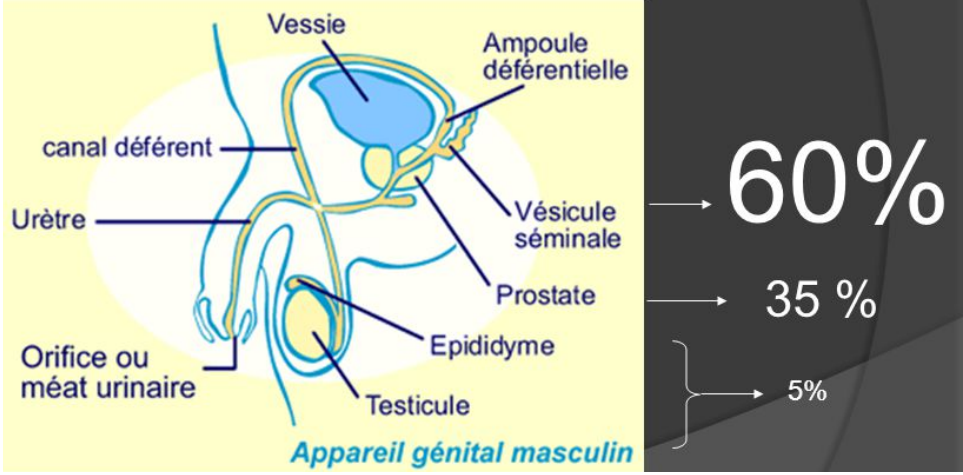
WHO : standardisation des processus de laboratoires

Retour d'expérience d'une année vécue selon les recommandations de la nouvelle classification 2016 de l'OMS (WHO) : implications pratiques en termes de mise au point diagnostique et d'épidémiologie.

Dr Henry Paridaens Laboratoires Cliniques d'Hématologie-UZ Leuven
Sous la supervision du Dr Caroline Brusselmans



Composition du sperme



- A peu près 90% du volume du sperme < secrétions d'organes accessoires (prostate et vésicules séminales)

- Nombre total de SZ ➔ production par les testicules
- Volume total ➔ activité sécrétoire des glandes

- !!! Pendant RS: fraction initiale riche en SZ en contact avec muqueuse cervicale, le restant = Pool dans le vagin <=> laboratoire: entièreté éjaculat analysé

Morphologie

- Relation entre % de formes normales et différents endpoints de fertilité (TTP: time-to-pregnancy, Pregnancy rates in vivo and in vitro) a été établi (Eggert-Kruse et al 1996, Jouannet et al. 1988, Toner et al. 1995, Coetzee et al 1998, Menkveld et al 2001, Van Waart et al 2001, Garrett et al 2003, Liu et al 2003)

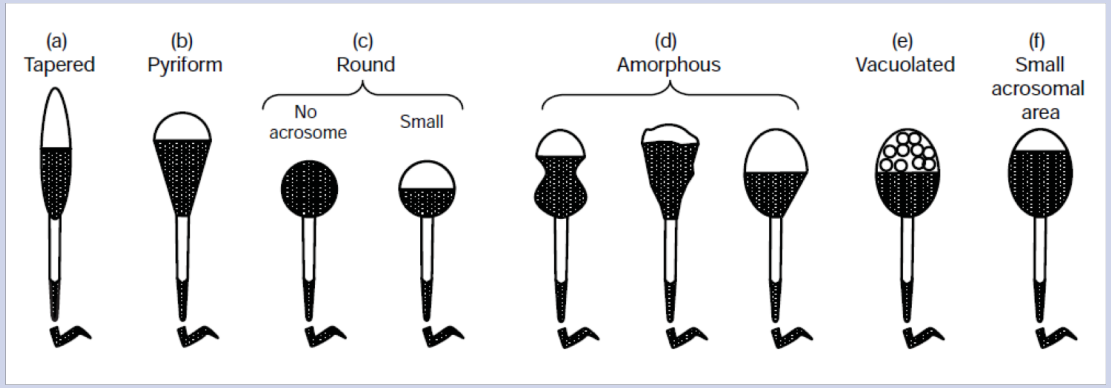
➔ Anomalies morphologiques → potentiel fécondant réduit (voir aboli si SZ sans acrosome; d'autant + si cumul anomalies)

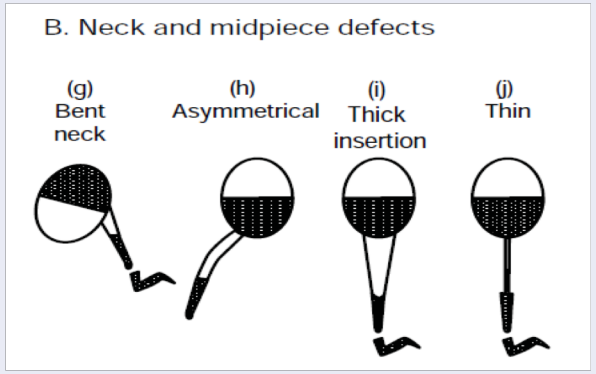
➔ % de SZ vivants, IAM → valeur pronostique in vivo et in vitro.

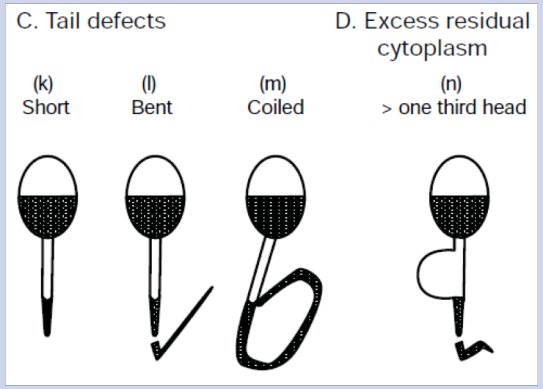
.

- Cependant, range des valeurs normales pour hommes fertiles et infertiles: 0-30% avec peu d'échantillons avec + de 25% de formes normales (Menkved et al, 2001).
- ➔ donc on se retrouve avec des seuils BAS : valeurs de référence entre 3-5% de formes normales
- !!!! Critères < études de fertilisation in vitro (Coetzee et al 1998), d'insémination intra-utérine (Van Waart et al 2001) et fertilité in vivo (Van der Merwe, 2005)

WHO (Adapté de Kruger)







Auger

7 anomalies de la tête:

- Têtes allongées
- Têtes amincies
- Microcéphales
- Macrocéphales
- Tête multiples
- Tête avec acrosome absent ou absent
- Tête avec base (région post-acrosomique) anormale

3 anomalies pièce intermédiaire

- Reste cytoplasmique
- Grêle
- Angulée

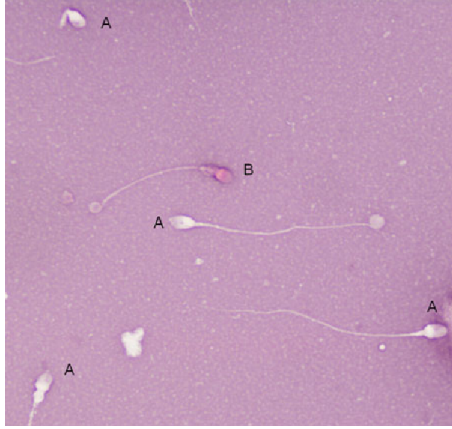
5 anomalies de la pièce principale

- Absent
- Écourtée
- De calibre irrégulier
- Enroulée
- Multiple

Morphologie

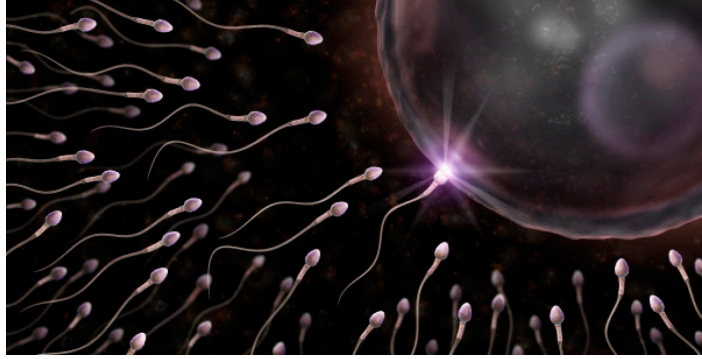
- !!! Variation dans interprétation ou faible performance dans les CQE par manque d'objectivité
- SZ = NORMAL SSI à la fois la tête et la queue sont normales
- Toutes les formes borderline ➔ à considérer comme anormales

Vitalité



- **A analyser toujours en // avec la mobilité**
  - Vitalité spécialement importante pour les échantillons avec < 40% de SZ mobiles
  - ➔ Le % de cellules mortes ne doit pas > au % de cellules immobiles.
  - ➔ Le % de cellules vivantes normalement > % de SZ mobiles.
- À faire de préférence dans les 30 minutes (max 1 heure après éjaculation)
- Si haut % de cellules vivantes MAIS immobiles ➔ anomalies flagellaires
- Si haut % de cellules immobiles et non-vivantes ➔ pathologies épididyme
- Limite de référence inférieure : 58% (WHO)

Mobilité : valeurs de référence



- *Mobilité progressive (PR):* SZ se déplaçant activement, soit linéairement soit en cercle large (qu'importe la vitesse)
- *Mobilité non progressive (NP):* toutes autres formes de pattern de mobilité en absence de progression

- Limite basse de mobilité totale (PR + NP) : 40%
- Limite basse mobilité progressive (PR): 32%

Test optionnel

- Indice de défects multiples
  - Peut être + utile que la simple évaluation du % de SZ morphologiquement normaux (surtout pour évaluer l'étendue des dommages à la spermatogénèse).

  - <u>3 indices disponibles</u>
    - Index des anomalies multiples (MAI) Jouannet et al, 1988
    - Teratozoospermie index (TZI) (Menkveld& Kruger 1996, Menkveld et al, 2001)
    - Sperm deformity index (SDI) (Aziz et al)

	MAI	TZI*	SDI
Maximum value		4.00	3.00
Denominator	abnormal sperm	abnormal sperm	all sperm
(A) No. of spermatozoa counted	200	200	200
normal spermatozoa (N)	46	46	46
normal spermatozoa (%)	23	23	23
(B) No. of spermatozoa with defects (200–46)	154	154	154
(1) No. of head defects (MAI, SDI) or number of spermatozoa with ≥1 head defect (TZI)	284	154	212
(2) No. of midpiece defects (MAI) or number of spermatozoa with ≥1 midpiece defect (TZI, SDI)	54	52	52
(3) No. of principal piece defects (MAI) or number of spermatozoa with ≥1 principal piece defect (TZI, SDI)	54	46	46
(4) No. of spermatozoa with excess residual cytoplasm	14	14	14
(C) Total defects MAI: (1) + (2) + (3) = (C)	392		
(D) Total defects TZI, SDI: (1) + (2) + (3) + (4) = (D)		266	324
Index calculation	C/B	D/B	D/A

Sperme et pré-analytique

- Problème pré-analytique : majorité des causes de discordances quand études comparatives

- Pas de loi en Belgique pour collecte sur site obligatoire! <=> France, Espagne, …
  - Contrôle du délai entre prélèvement et arrivée au laboratoire?
  - Le bon patient?
  - Conditions pré-analytiques: transport en hiver, …
  - WHO: Privilégier la récolte au laboratoire (⇔ maison pour cas si pas de disposition matérielle au laboratoire)

- Quand sperme émis: délai de maximum d'1 heure!
  - Vérification de la liquéfaction du sperme (après 30 minutes ou 60 min)

- Travailler à T° ambiante ou à T° corporelle ? (37°C)
- Homogénéisation et problème de mélange

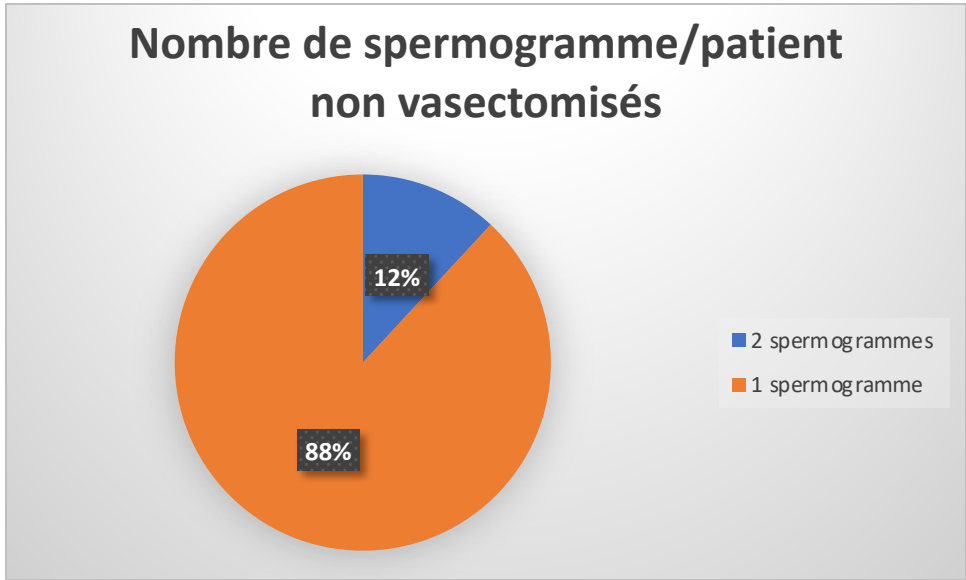
Sperme et pré-analytique

- !!! À la première partie (riche en SZ) de l'éjaculat !!!
- Qualité dépendante de:
  - Façon dont l'éjaculat a été produit (masturbation versus condoms non spermicides)
  - Production SZ par les testicules
  - Secrétions des organes accessoires
  - **Maladie récente (surtout si fièvre)**
  - Durée d'abstinence (recommandations: au moins 2 jours) (& la période pénultième d'abstinence)
  - La taille du testis

➔ Impossible d'évaluer la qualité du sperme sur un seul échantillon!

by WHO-recommended methods, of five healthy young volunteers participating in the placebo arm of a male hormonal contraception study. Such variablility has consequences for the interpretation of semen analyses:

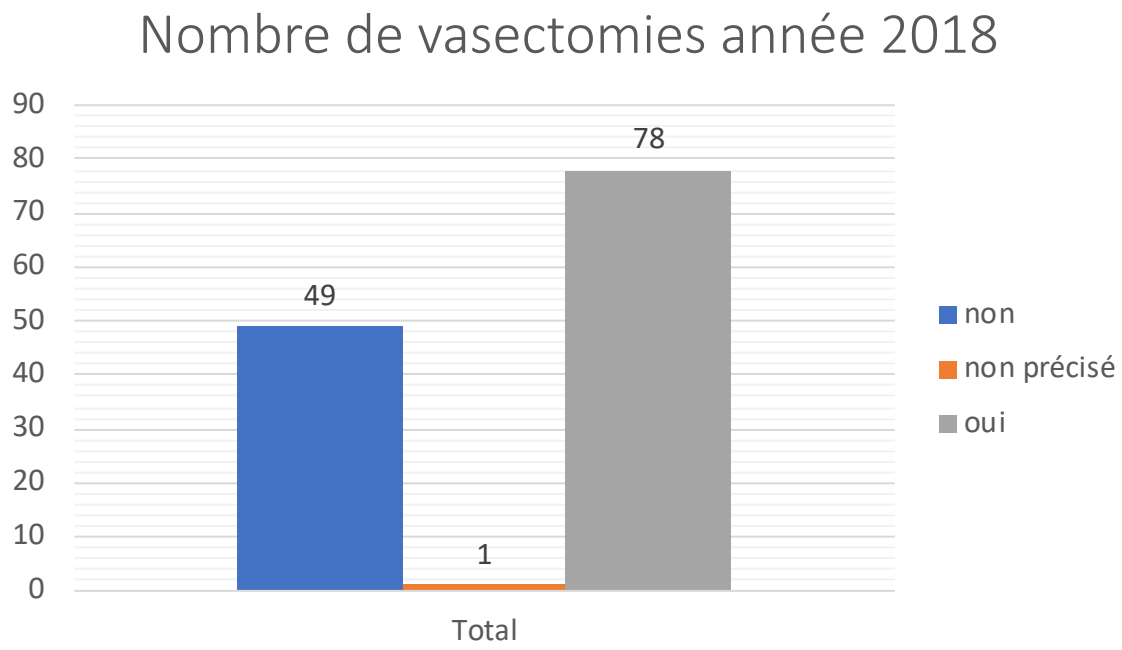
- It is impossible to characterize a man's semen quality from evaluation of a single semen sample.
- It is helpful to examine two or three samples to obtain baseline data (Poland et al., 1985; Berman et al., 1996; Carlsen et al., 2004; Castilla et al., 2006; Keel, 2006).

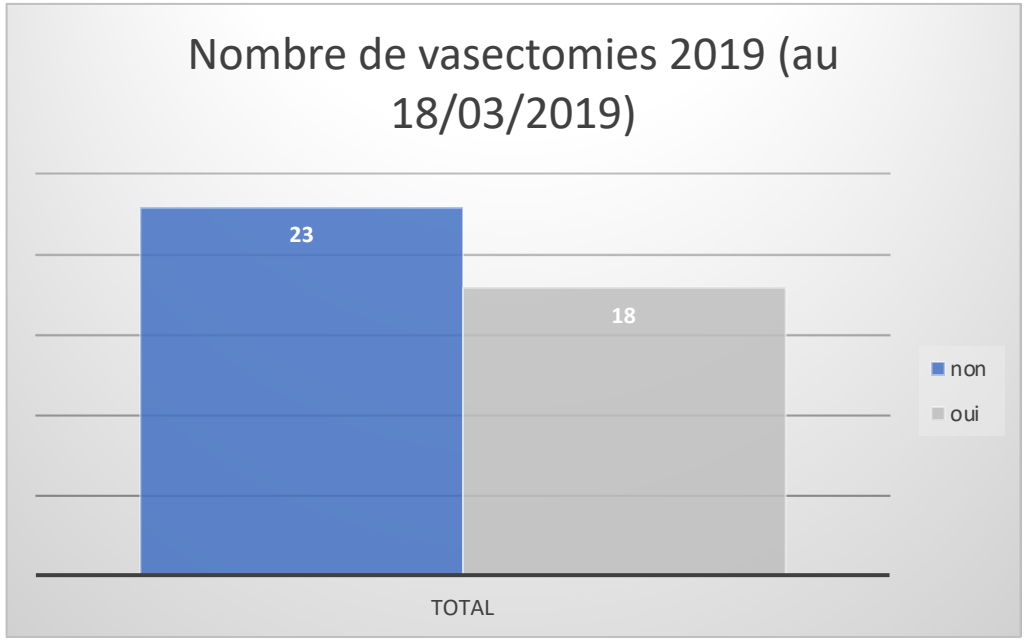


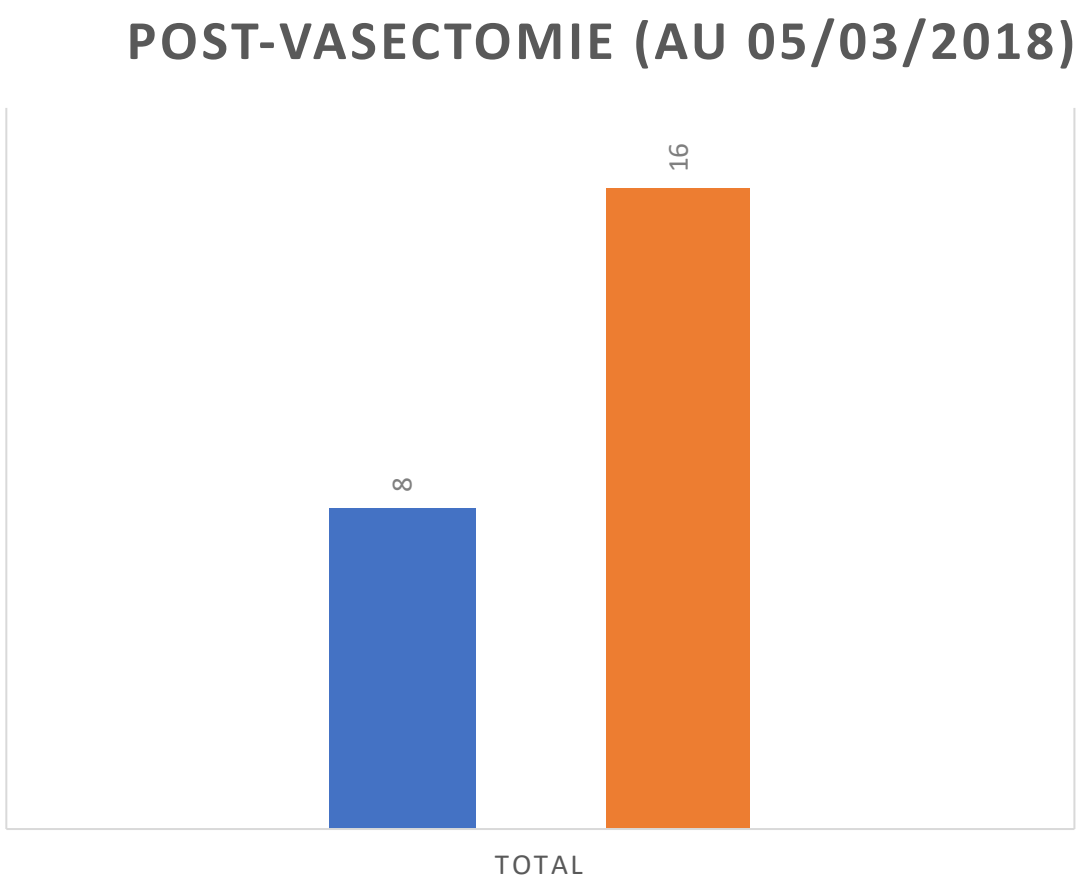
Le spermogramme à SLBO

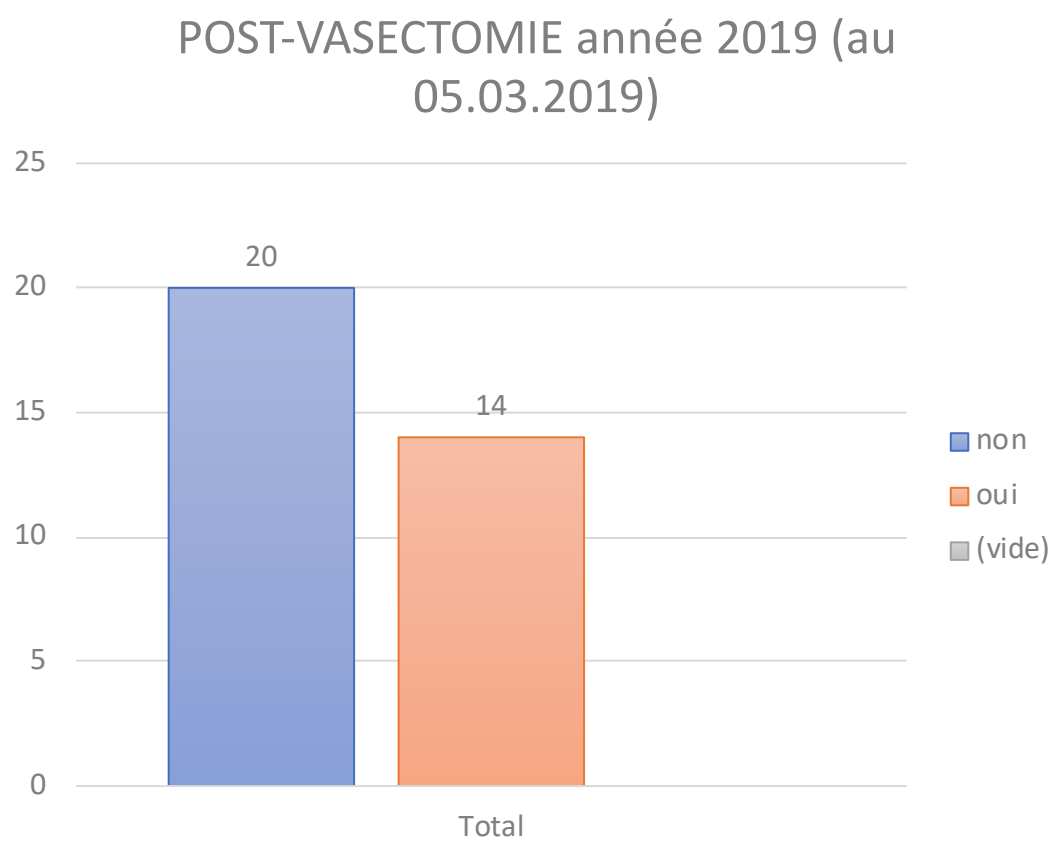
Clinique Saint-Luc Bouge

- 138 échantillons reçus en 2018

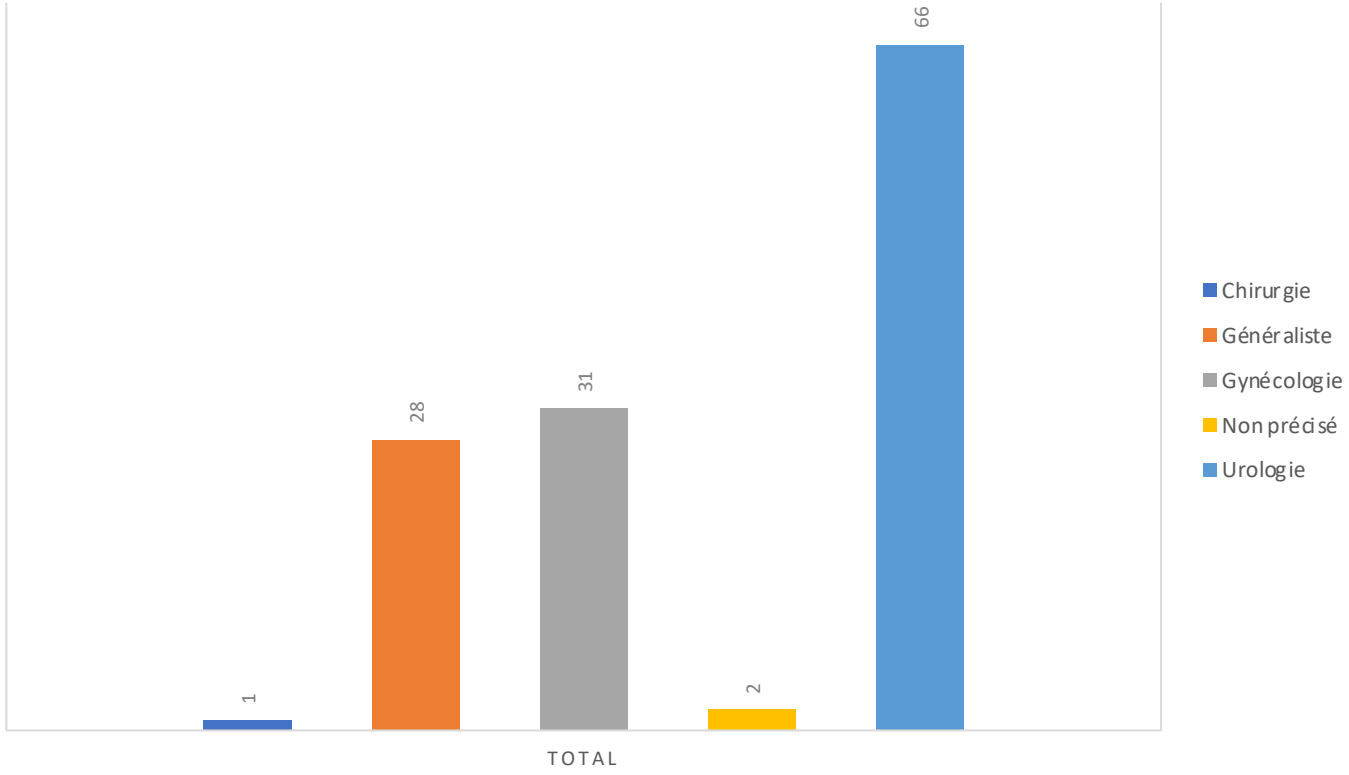




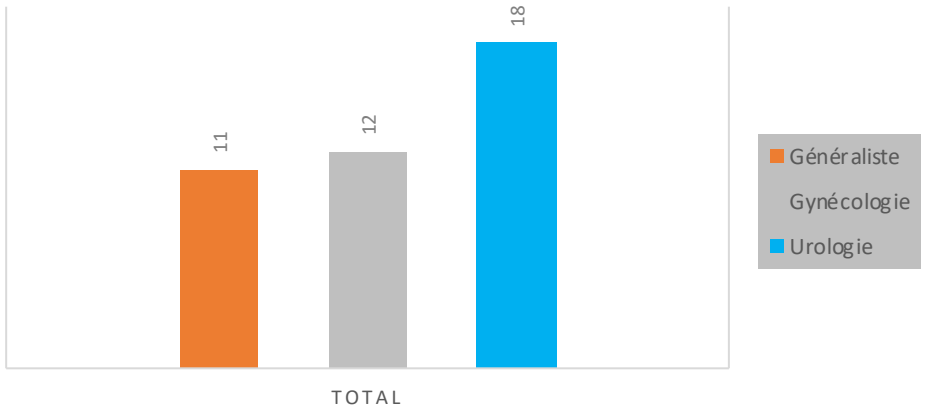

POST-VASECTOMIE (AU 05/03/2018)
8
16
TOTAL
non
oui


POST-VASECTOMIE année 2019 (au 05.03.2019)
25
20
15
10
5
0
20
14
Total
non
oui
(vide)

GROUPE PRESCRIPTEURS 2018



GROUPE PRESCRIPTEURS 2019 (AU 18/03/2019)



Spermogramme et nomenclature

- Dosage du fructose: B200
- Numération et mobilité des spermatozoïdes: B250
- Examen morphologique du sperme après coloration: B350
- Recherche anticorps anti-spermatozoïdes: B250
- Recherche anticorps liés aux spermatozoïdes: B250

Systèmes d'automatisation

- Spermo(-cyto)gramme: dernier bastion résistant à l'automatisation
  - Œil humain: 12-13% d'imprécision statistique et estimation incertaine de la mobilité (par le %)

  ➔Cumul de 2 incertitudes pour [formes mobiles]

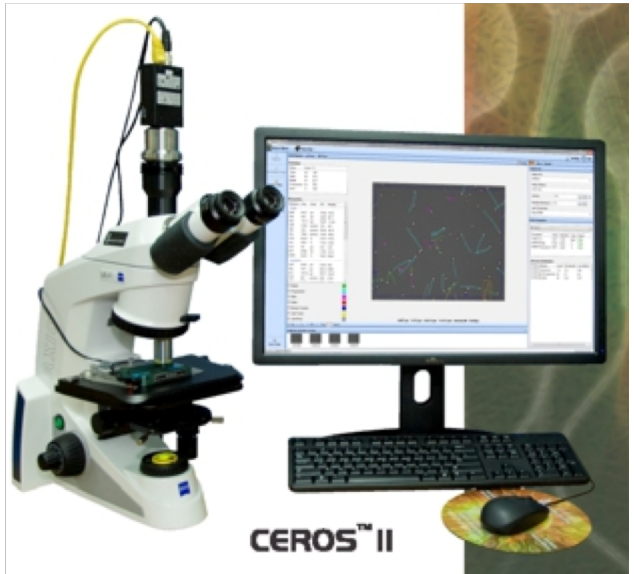
  - Grande variabilité inter et intra-laboratoires → manque de précision
  - Contrôle de qualité interne et externe (ex Sciensano)
  - Automatisation → étude de paramètres non analysables par l'œil humain (ex: vitesses de déplacement des SZ) mais pas de seuil dans WHO et intérêt discutable
- Développement des automates de spermiologie depuis 20 ans
  - Fiabilité des résultats?
  - Variabilité minimale?

2 grandes catégories d'automates

- Système CASA (*Computer-Aided Sperm analysis*)
  - Acquisition d'images successives d'un échantillon à l'aide d'un microscope équipé d'une caméra
  - Expertise de l'opérateur requise pour régler et ajuster
  - Morphologie: mesure automatisée des différentes parties du SZ
  - Les + évoluées: platine motorisée permettant acquisition séquentielle de plusieurs champs
- Système SQA (*Sperm Quality Analyser*)
  - Analyse d'un signal lumineux à travers l'échantillon à l'aide d'un spectrophotomètre
  - Morphologie spermatique : estimation calculée à partir d'algorithmes spécifiques
  - Spermogramme disponible très rapidement sans intervention de l'opérateur (sauf si alarmes)
  - Volume + important analysé ➔ + représentatif MAIS pénalisant si faible volume

CASA (*Computer-Aided Sperm Analysis*)

- Possibilité de déterminer la [] en SZ, la [] des formes progressives mobiles
- Toujours basé sur l'interprétation de l'œil humain comme dernier contrôle
- Limitations techniques (ex: concentrations et clumps de SZ; spurious SZ; SZ immobiles entrainés par le battement d'autre) et biologiques
- Répartition inhomogène dans chambres de lecture de profondeurs différentes
- Solutions de pré-triage (// Cellavision)



Innovations to Rely On
HAMILTON THORNE

However, especially in the human clinical semen analysis field, we should stop trying to use CASA for applications that are inherently problematic for the underlying technology

Urgent improv ology need to address s alysis,

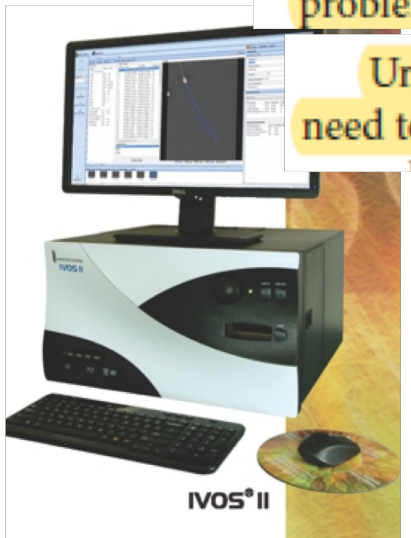


Table 1: Biological factors that affect CASA analysis, a comparison of semen samples for humans and domesticated species

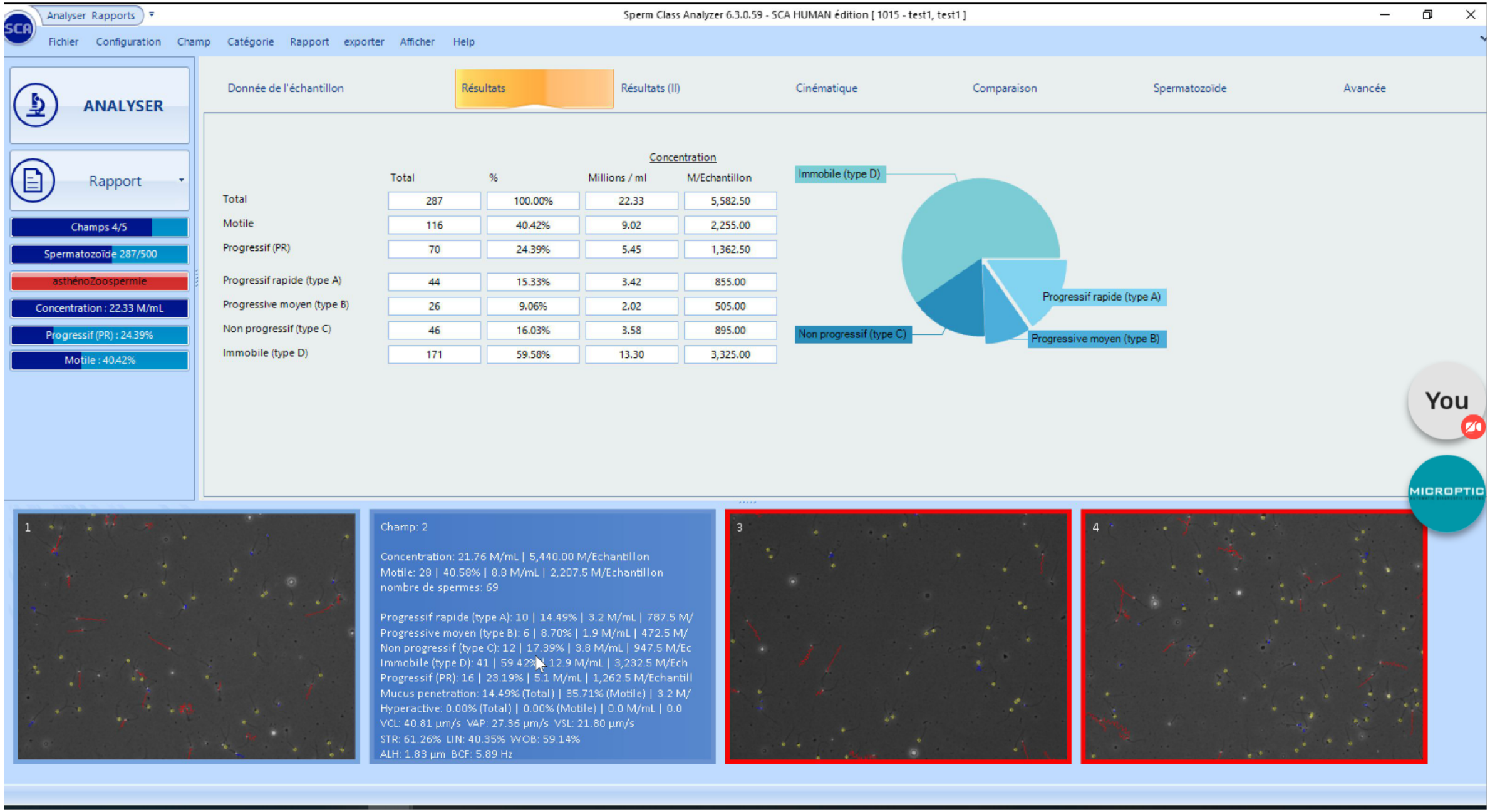
Characteristic	*Animal (Eutherian) semen*	*Human semen (patients)*
Fecundity/fertility	Typically selected for high fecundity over many generations	Generally a low fecundity species, with infertility patients being "the worst of the worst"
Presence of other cells, debris, etc., in the semen	Generally "clean" ejaculates	Typically very "dirty" ejaculates, containing lots of particles and cellular and other debris (large amount of background noise)
Semen viscosity	Relatively low in most species	Generally high; also shows "micro-heterogeneity", making accurate representative sampling very difficult
Sperm morphology	Highly consistent in very many species, although in some groups (e.g., carnivores) there can be many types of abnormalities (and the naked rodent mole has spermatozoa that are even more pleomorphic than man)	Highly pleiomorphic
Sperm motility	Typically very high, often well above 60%	Typically lower (often <50%) Lots of dead spermatozoa with aggregation ("clumping")
Sperm count/concentration	High (e.g., many domesticated and wildlife species >1000 M ml^{-1}); samples are typically highly diluted with an "extender" before analysis	Generally $<200\times10^6$ ml^{-1}, often very low ($<25\times10^6$ ml^{-1}) Dilution requires homologous seminal plasma to preserve motility kinematics

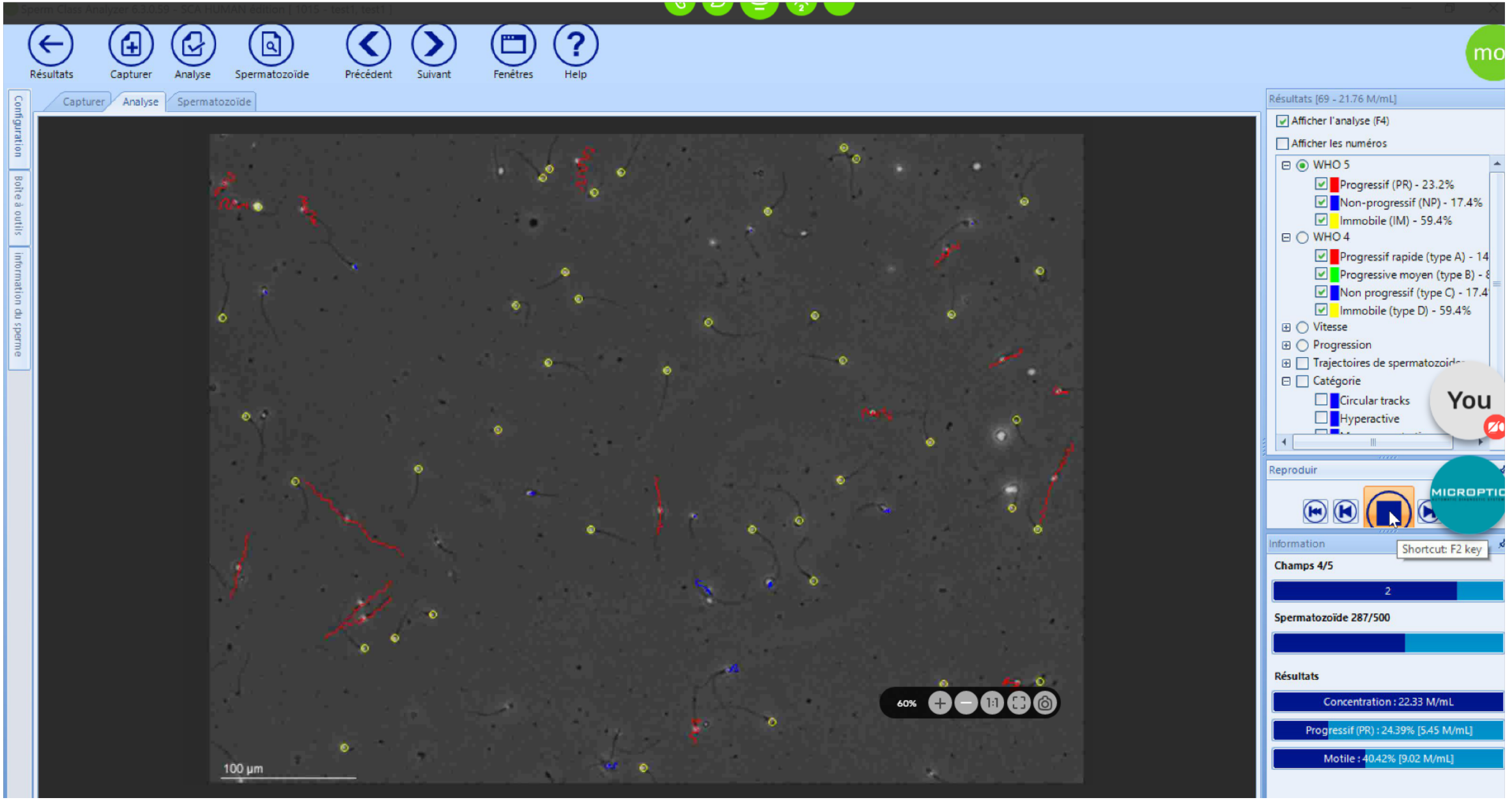
CASA: computer-aided sperm analysis

MICROPTIC

AUTOMATIC DIAGNOSTIC SYSTEMS

join.me/ microptic
Résultats
Capturer
Analyse
Spermatozoïde
Précédent
Suivant
Fenêtres
Help
Capturer
Analyse
Spermatozoïde
Configuration
Boîte à outils
Caméra
60%
1:1
Capturer
ANALYSER
You
MICROPTIC
Information
Champs 4/5
4
Spermatozoïde 287/500
Résultats
Concentration : 22.33 M/mL
Progressif (PR) : 24.39% [5.45 M/mL]
Motile : 40.42% [9.02 M/mL]
Cursor: X= 0; Y = 0; I = 0;


Analyser Rapports
Sperm Class Analyzer 6.3.0.59 - SCA HUMAN édition [1015 - test1, test1]
Fichier
Configuration
Champ
Catégorie
Rapport
exporter
Afficher
Help
ANALYSER
Rapport
Champs 4/5
Spermatozoïde 287/500
asthénoZoospermie
Concentration : 22.33 M/mL
Progressif (PR) : 24.39%
Motile : 40.42%
Donnée de l'échantillon
Résultats
Résultats (II)
Cinématique
Comparaison
Spermatozoïde
Avancée
Concentration
Total
%
Millions / ml
M/Echantillon
Total 287 100.00% 22.33 5,582.50
Motile 116 40.42% 9.02 2,255.00
Progressif (PR) 70 24.39% 5.45 1,362.50
Progressif rapide (type A) 44 15.33% 3.42 855.00
Progressive moyen (type B) 26 9.06% 2.02 505.00
Non progressif (type C) 46 16.03% 3.58 895.00
Immobile (type D) 171 59.58% 13.30 3,325.00
Immobile (type D)
Progressif rapide (type A)
Non progressif (type C)
Progressive moyen (type B)
You
MICROPTIC
1
Champ: 2
Concentration: 21.76 M/mL | 5,440.00 M/Echantillon
Motile: 28 | 40.58% | 8.8 M/mL | 2,207.5 M/Echantillon
nombre de spermes: 69
Progressif rapide (type A): 10 | 14.49% | 3.2 M/mL | 787.5 M/
Progressive moyen (type B): 6 | 8.70% | 1.9 M/mL | 472.5 M/
Non progressif (type C): 12 | 17.39% | 3.8 M/mL | 947.5 M/Ec
Immobile (type D): 41 | 59.42% | 12.9 M/mL | 3,232.5 M/Ech
Progressif (PR): 16 | 23.19% | 5.1 M/mL | 1,262.5 M/Echantill
Mucus penetration: 14.49% (Total) | 35.71% (Motile) | 3.2 M/
Hyperactive: 0.00% (Total) | 0.00% (Motile) | 0.0 M/mL | 0.0
VCL: 40.81 µm/s VAP: 27.36 µm/s VSL: 21.80 µm/s
STR: 61.26% LIN: 40.35% WOB: 59.14%
ALH: 1.83 µm BCF: 5.89 Hz
3
4

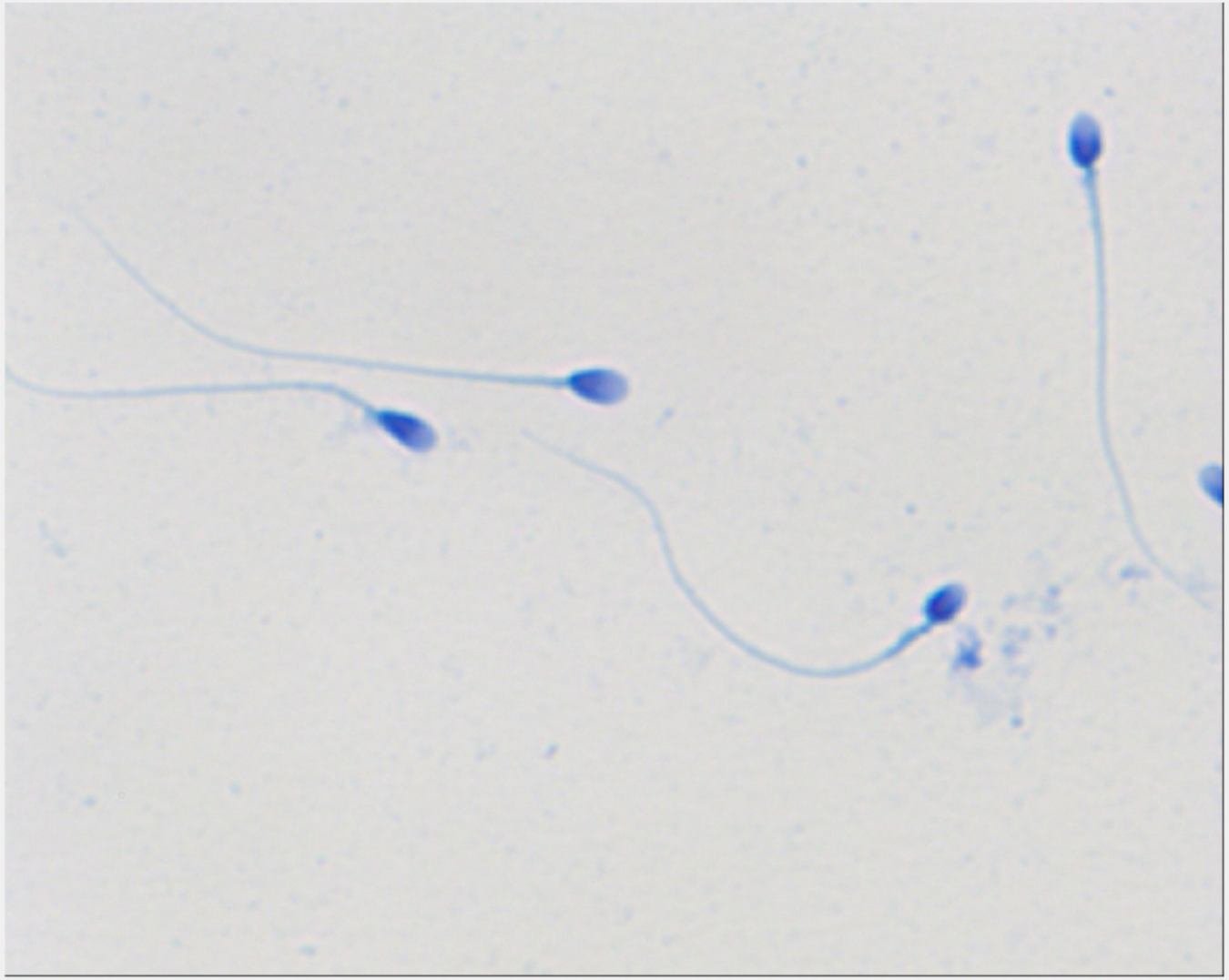

Résultats
Capturer
Analyse
Spermatozoïde
Précédent
Suivant
Fenêtres
Help
Capturer
Analyse
Spermatozoïde
Configuration
Boite à outils
information du sperme
Résultats [69 - 21.76 M/mL]
Afficher l'analyse (F4)
Afficher les numéros
WHO 5
Progressif (PR) - 23.2%
Non-progressif (NP) - 17.4%
Immobile (IM) - 59.4%
WHO 4
Progressif rapide (type A) - 14
Progressive moyen (type B) - 8
Non progressif (type C) - 17.4
Immobile (type D) - 59.4%
Vitesse
Progression
Trajectoires de spermatozoïde
Catégorie
Circular tracks
Hyperactive
You
Reproduir
MICROPTIC
Information
Shortcut: F2 key
Champs 4/5
2
Spermatozoïde 287/500
Résultats
Concentration : 22.33 M/mL
Progressif (PR) : 24.39% [5.45 M/mL]
Motile : 40.42% [9.02 M/mL]
60%
100 µm

Sperm Class Analyzer 6.3.0.59 - SCA HUMAN édition [1015 - test1, test1]

Résultats | Capturer | Analyse | Spermatozoïde | Précédent | Suivant | Fenêtres | Help

Caméra | Configuration | Boîte à outils

Capturer | Analyse | Spermatozoïde



Capturer

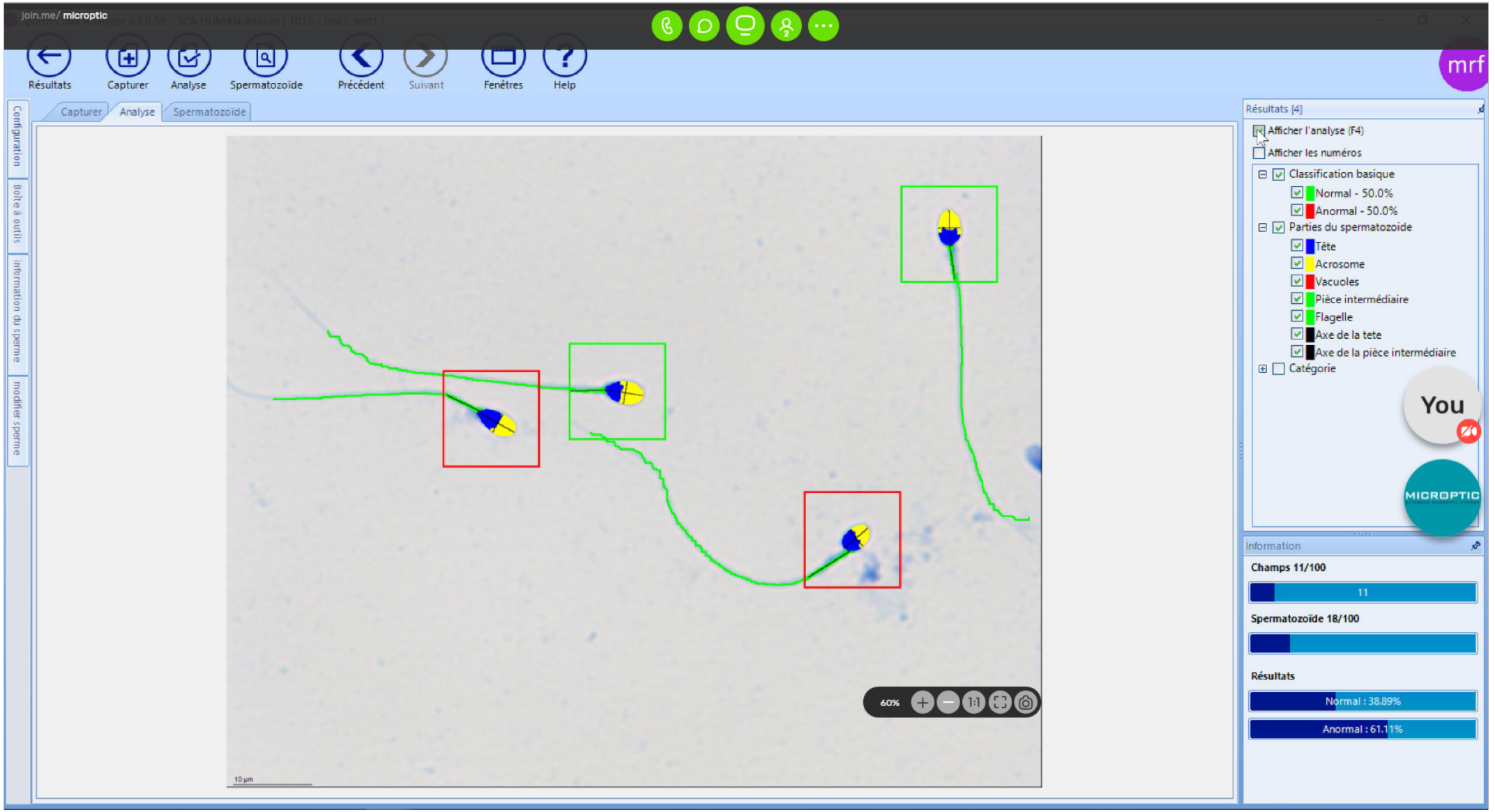
ANALYSER

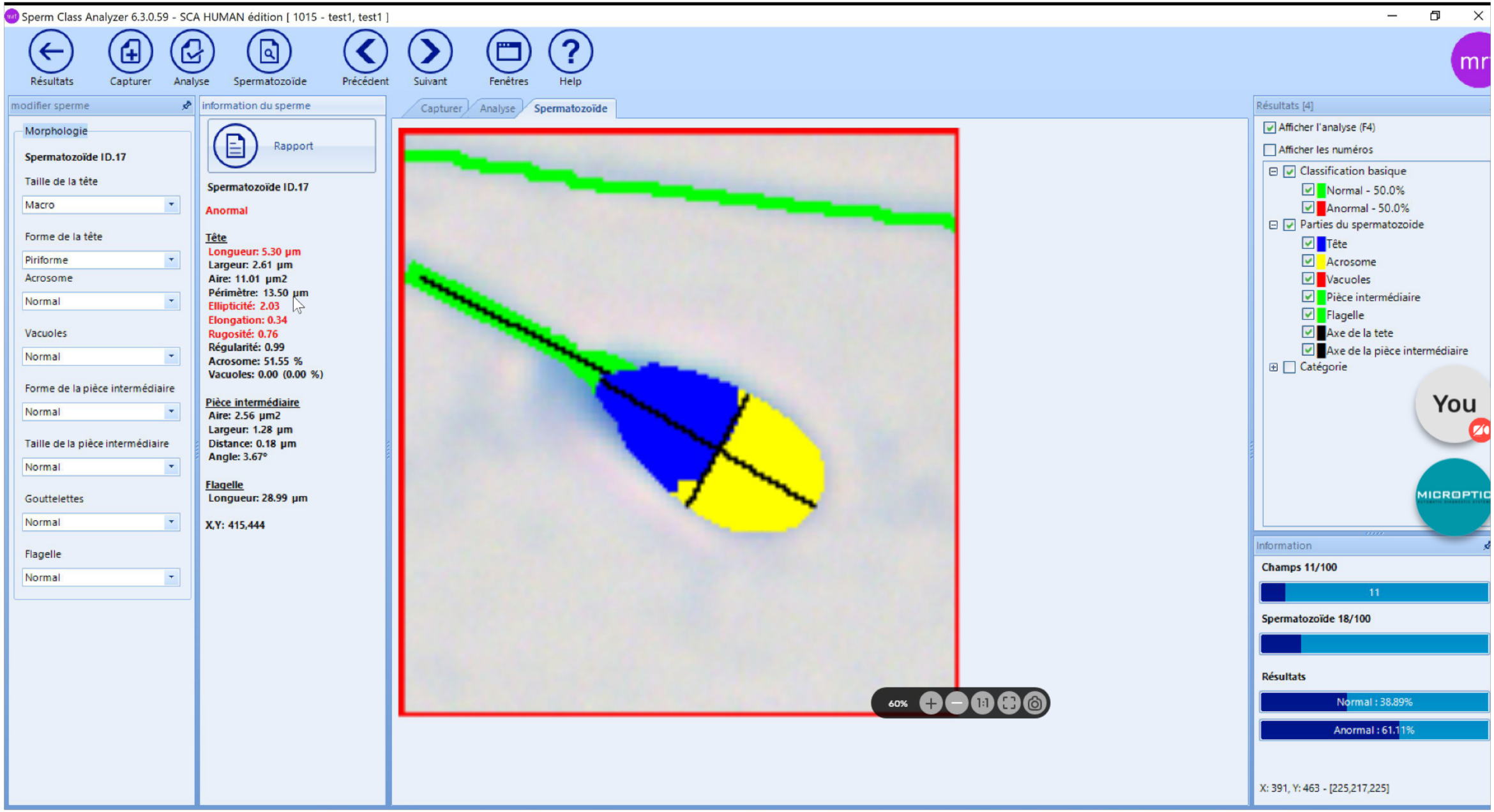
Information

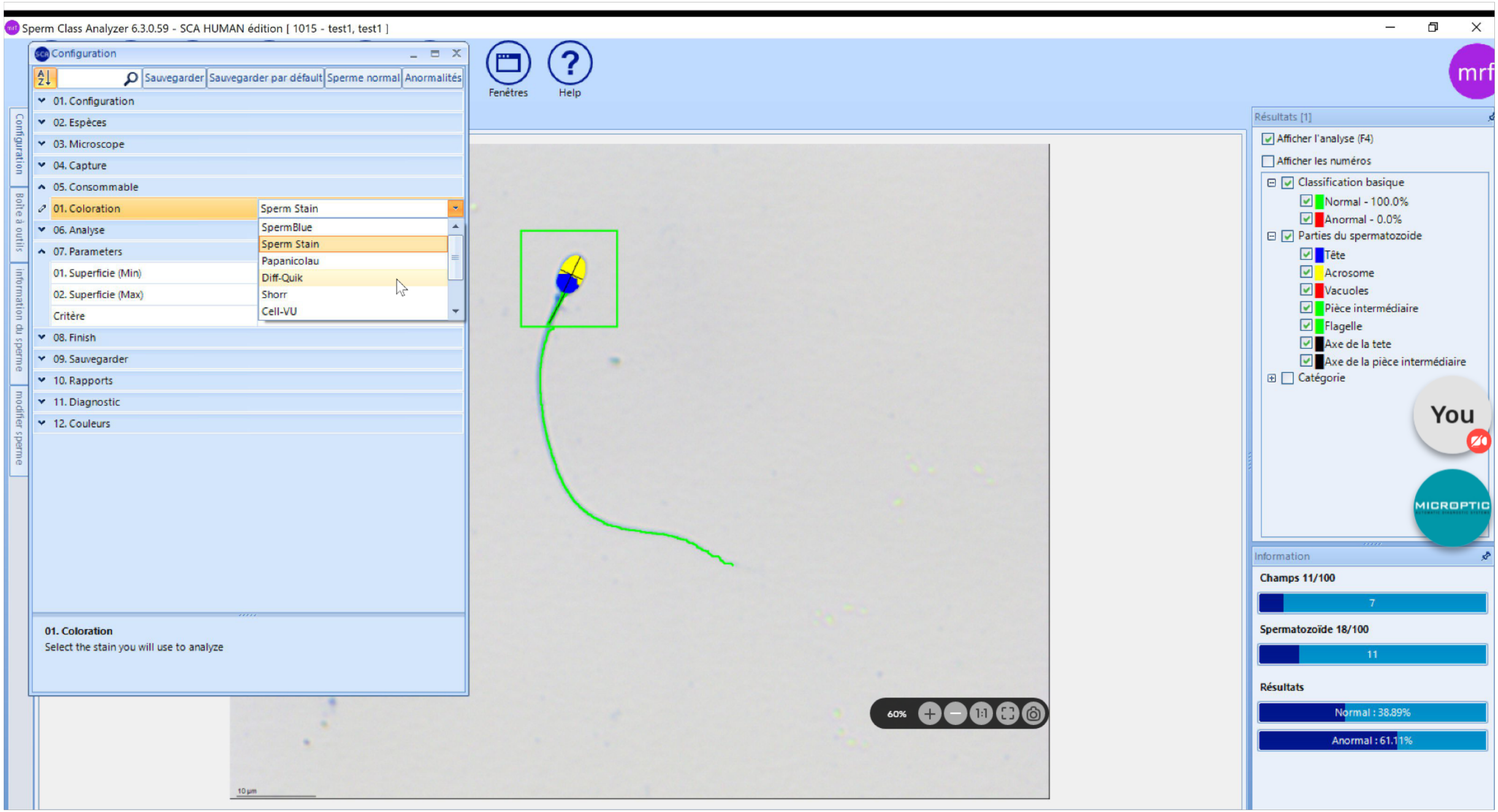
Champs 0/100

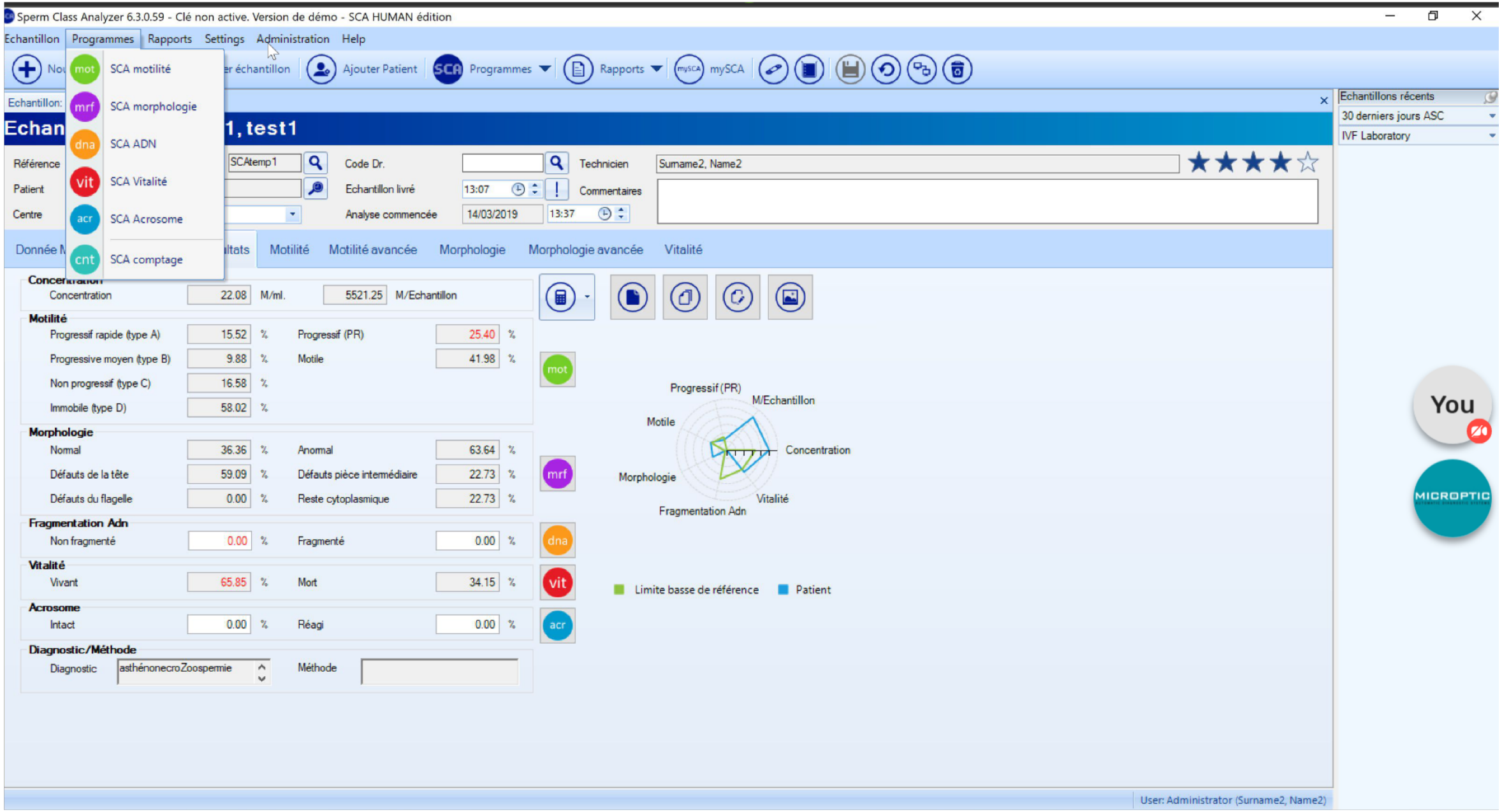
Spermatozoïde 0/100

Résultats


join.me/ microptic
Résultats
Capturer
Analyse
Spermatozoïde
Précédent
Suivant
Fenêtres
Help
mrf
Configuration
Boite a outils
information du sperme
modifier sperme
Capturer
Analyse
Spermatozoïde
Résultats [4]
Afficher l'analyse (F4)
Afficher les numéros
Classification basique
Normal - 50.0%
Anormal - 50.0%
Parties du spermatozoide
Tête
Acrosome
Vacuoles
Pièce intermédiaire
Flagelle
Axe de la tete
Axe de la pièce intermédiaire
Catégorie
You
MICROPTIC
Information
Champs 11/100
11
Spermatozoïde 18/100
Résultats
Normal : 38.89%
Anormal : 61.11%
60%
10 µm


Sperm Class Analyzer 6.3.0.59 - SCA HUMAN édition [1015 - test1, test1]
Résultats
Capturer
Analyse
Spermatozoïde
Précédent
Suivant
Fenêtres
Help
modifier sperme
Morphologie
Spermatozoïde ID.17
Taille de la tête
Macro
Forme de la tête
Piriforme
Acrosome
Normal
Vacuoles
Normal
Forme de la pièce intermédiaire
Normal
Taille de la pièce intermédiaire
Normal
Gouttelettes
Normal
Flagelle
Normal
information du sperme
Rapport
Spermatozoïde ID.17
Anormal
Tête
Longueur: 5.30 µm
Largeur: 2.61 µm
Aire: 11.01 µm2
Périmètre: 13.50 µm
Ellipticité: 2.03
Elongation: 0.34
Rugosité: 0.76
Régularité: 0.99
Acrosome: 51.55 %
Vacuoles: 0.00 (0.00 %)
Pièce intermédiaire
Aire: 2.56 µm2
Largeur: 1.28 µm
Distance: 0.18 µm
Angle: 3.67°
Flagelle
Longueur: 28.99 µm
X,Y: 415,444
Capturer
Analyse
Spermatozoïde
60%
1:1
Résultats [4]
Afficher l'analyse (F4)
Afficher les numéros
Classification basique
Normal - 50.0%
Anormal - 50.0%
Parties du spermatozoïde
Tête
Acrosome
Vacuoles
Pièce intermédiaire
Flagelle
Axe de la tete
Axe de la pièce intermédiaire
Catégorie
You
MICROPTIC
Information
Champs 11/100
11
Spermatozoïde 18/100
Résultats
Normal : 38.89%
Anormal : 61.11%
X: 391, Y: 463 - [225,217,225]


Sperm Class Analyzer 6.3.0.59 - SCA HUMAN édition [1015 - test1, test1]
Configuration
Sauvegarder
Sauvegarder par défaut
Sperme normal
Anormalités
01. Configuration
02. Espèces
03. Microscope
04. Capture
05. Consommable
01. Coloration
Sperm Stain
06. Analyse
07. Parameters
01. Superficie (Min)
02. Superficie (Max)
Critère
08. Finish
09. Sauvegarder
10. Rapports
11. Diagnostic
12. Couleurs
SpermBlue
Sperm Stain
Papanicolau
Diff-Quik
Shorr
Cell-VU
01. Coloration
Select the stain you will use to analyze
Fenêtres
Help
Résultats [1]
Afficher l'analyse (F4)
Afficher les numéros
Classification basique
Normal - 100.0%
Anormal - 0.0%
Parties du spermatozoide
Tête
Acrosome
Vacuoles
Pièce intermédiaire
Flagelle
Axe de la tete
Axe de la pièce intermédiaire
Catégorie
Information
Champs 11/100
7
Spermatozoïde 18/100
11
Résultats
Normal : 38.89%
Anormal : 61.11%
60%
10 µm


Sperm Class Analyzer 6.3.0.59 - Clé non active. Version de démo - SCA HUMAN édition
Echantillon
Programmes
Rapports
Settings
Administration
Help
SCA motilité
SCA morphologie
SCA ADN
SCA Vitalité
SCA Acrosome
SCA comptage
Ajouter Patient
Programmes
Rapports
mySCA
Echantillon:
Echantillons récents
30 derniers jours ASC
IVF Laboratory
Référence
SCAtemp1
Code Dr.
Technicien
Surname2, Name2
Patient
Echantillon livré
13:07
Commentaires
Centre
Analyse commencée
14/03/2019
13:37
Motilité
Motilité avancée
Morphologie
Morphologie avancée
Vitalité
Concentration
Concentration
22.08
M/ml.
5521.25
M/Echantillon
Motilité
Progressif rapide (type A)
15.52
%
Progressif (PR)
25.40
%
Progressive moyen (type B)
9.88
%
Motile
41.98
%
Non progressif (type C)
16.58
%
Immobile (type D)
58.02
%
Morphologie
Normal
36.36
%
Anormal
63.64
%
Défauts de la tête
59.09
%
Défauts pièce intermédiaire
22.73
%
Défauts du flagelle
0.00
%
Reste cytoplasmique
22.73
%
Fragmentation Adn
Non fragmenté
0.00
%
Fragmenté
0.00
%
Vitalité
Vivant
65.85
%
Mort
34.15
%
Acrosome
Intact
0.00
%
Réagi
0.00
%
Diagnostic/Méthode
Diagnostic
asthénonecroZoospermie
Méthode
Progressif (PR)
M/Echantillon
Motile
Concentration
Morphologie
Vitalité
Fragmentation Adn
Limite basse de référence
Patient
User: Administrator (Surname2, Name2)
You
MICROPTIC

MICROPTIC

AUTOMATIC DIAGNOSTIC SYSTEMS

ScaScope

AUTOMATIC RESULTS

More than 100 parameters

Concentration
Motility
Morphology
Vitality
DNA fragmentation
Volume
pH
Agglutinations/aggregations
Round cells
Peroxidase-positive leukocytes
Functional tests (mucus penetration, hyperactivation).

Yet, like all other CASA systems, it is difficult to analyze sperm concentration and motility accurately, if at all, when severe clumping is present.

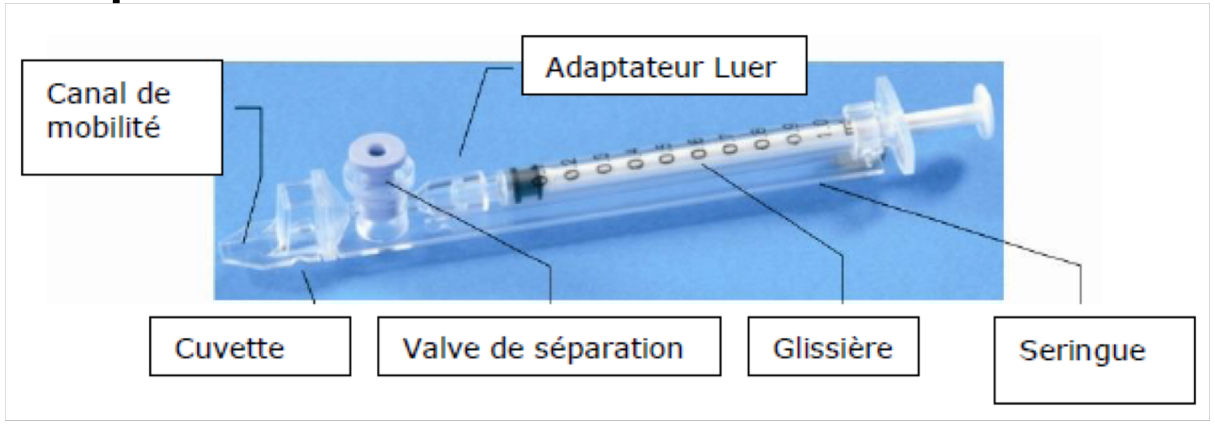
Système SQA (automates de)

- QwikCheck Gold

- SQA-V Gold

- SQA-Vision

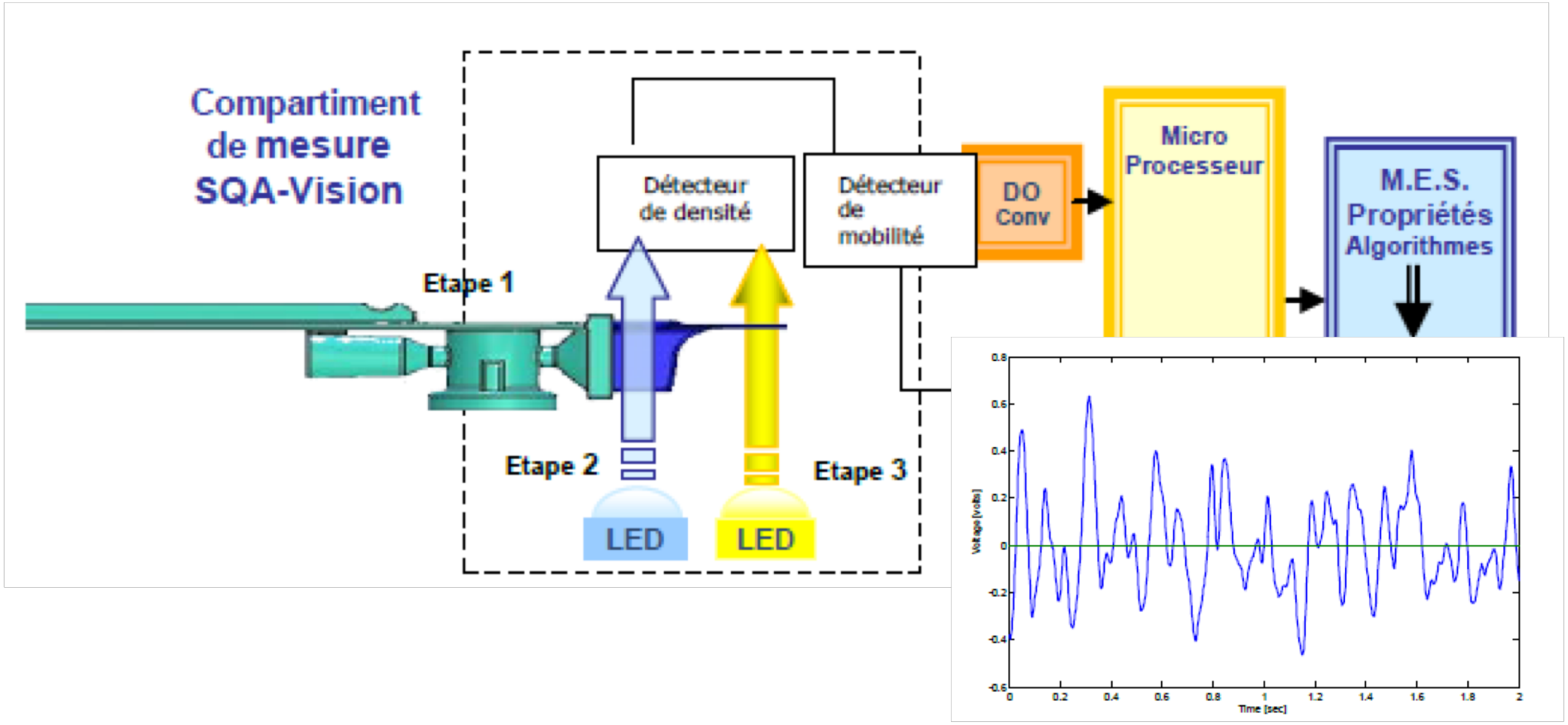
Capillaire de mesure



- **Mobilité**: section fine du capillaire. Nécessite 20µl de l'échantillon
- **Concentration:** grande section du capillaire. Nécessite 450µl de l'échantillon.

Adaptateur de lame

Technologie : Compartiment de mesure SQA-Vision



Echelle de valeur du SQA-Vision (TESTS AUTOMATISES)						
Type d'échantillon	Sperm Conc. M/ml	Mobilité %	Morph %	MSC M/ml	PMSC M/ml	Mobile / Immobile / Total Sperm M/ml
Frais	<2 - 400	0 - 100	2 - 30	<0.2 - 400	0 - 400	-
Lavé	<2 - 200+	0 - 100	2 - 30	<0.2 - 200+	0 - 200+	-
Swim-up, Gradient de densité, Congelé	-	-	-	<0.2 - 200+	0 - 200+	-
Post-Vasectomie	-	-	-	-	-	0 - 400

GAMME DU SQA-V Gold			
ECHANTILLON	CONCENTRATION	MSC	Motility %
FRAIS	2-400 ou < 2 M/ml	0.2-400 ou <0.2 M/ml	0-100%
LAVE	2-200 ou < 2 M/ml	0.2-200 ou <0.2 M/ml	0-100%
CONGELE	-	0.2-200 ou <0.2 M/ml	-
POST-VASECTOMIE	Entrée manuelle	0-30 Spermatoz/Champ	-

DYNAMIC RANGE OF THE SYSTEM Gold			
SAMPLE	SPERM CONC in M/ml	MSC in M/ml	Motility %
FRAIS	2-400 or < 2 M/ml	0.2-400 or <0.2 M/ml	0-100%
LAVE	2-200 or < 2 M/ml	0.2-200 or <0.2 M/ml	0-100%
CONGELE	Not reported	0.2-200 or <0.2 M/ml	Not reported

Tests automatisés par le SQA-Vision

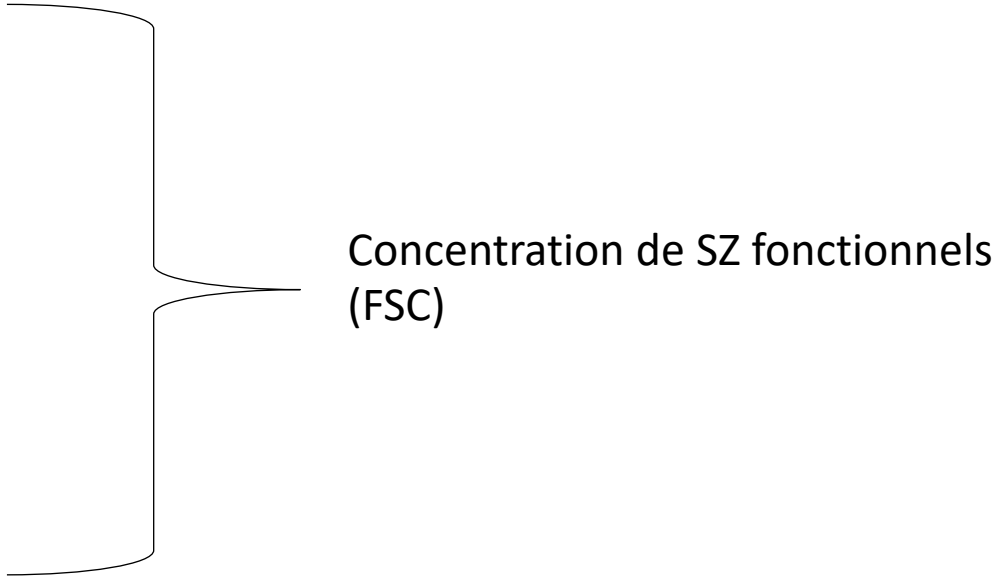
- Concentration en SZ (M/ml)
- Mobilité totale PR+NP (%)

→ Concentration des SZ mobiles

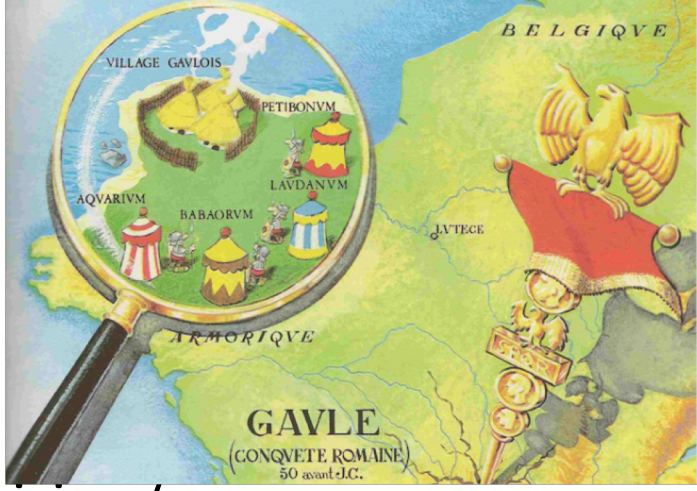
- Mobilité progressive PR (%)

→ Concentration SZ mobiles progressifs

- Mobilité non progressive NP (%)
- Immobilité IM (%)
- Formes normales (selon WHO 5th) (%)
- Vélocité (mic/sec)
- Index de mobilité des SZ (SMI)



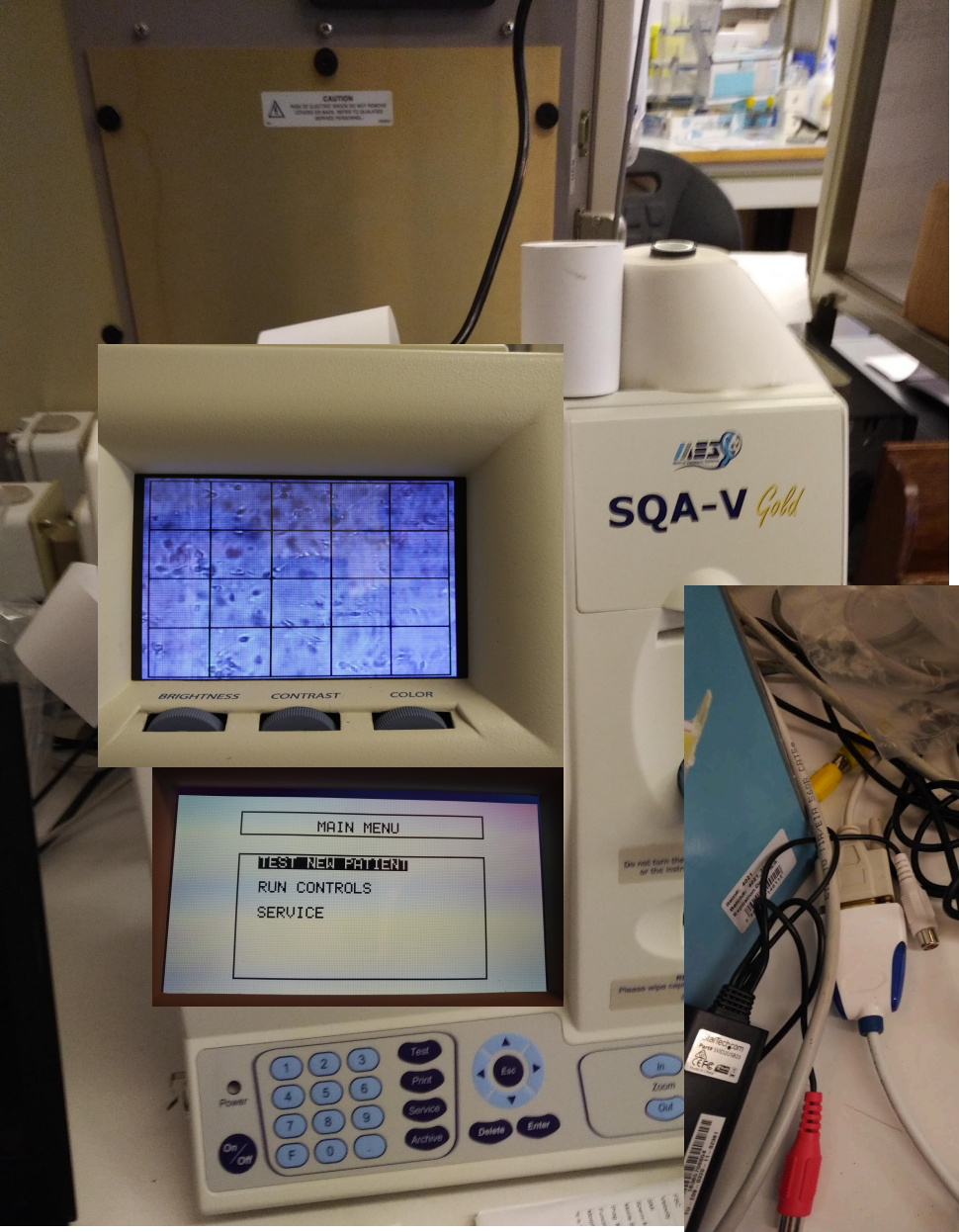
Tests manuels & semi-automatisés

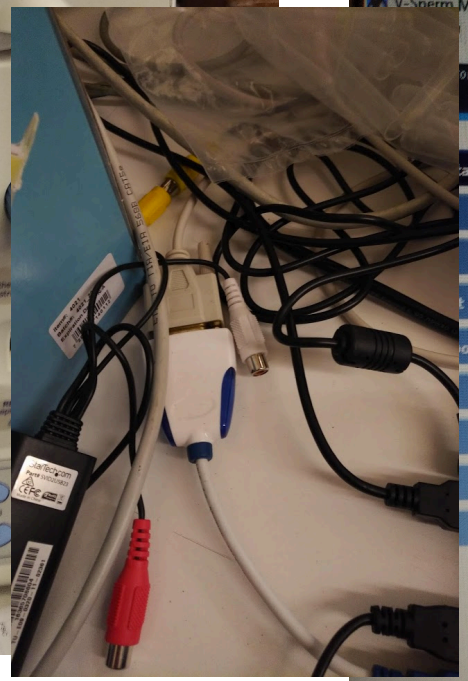


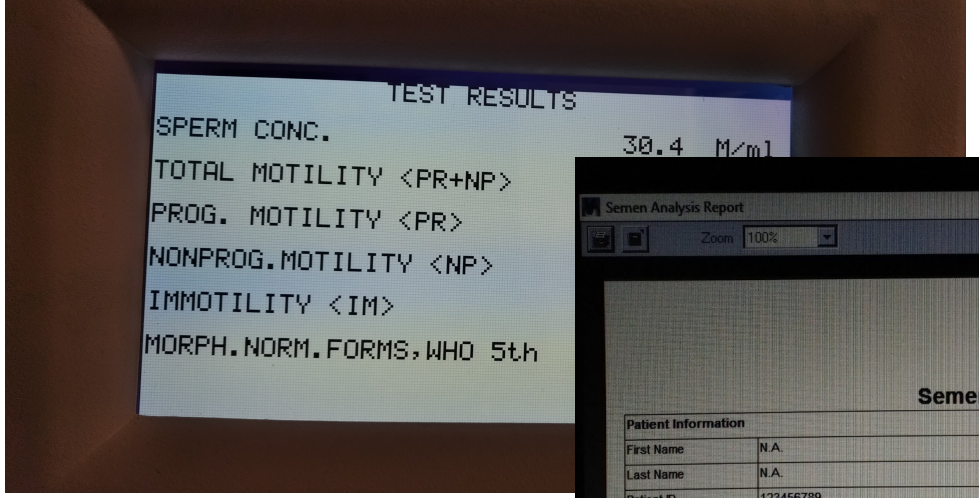
- Post-vasectomies:
  - Vérification manuelle par lame/lamelle du comptage SQA-vision (car gamme de mesure: 2 000 000 – 450 000 000)
- Vitalité
- Morphologie : classification des différentes anomalies
- Pas possible d'établir les indices d'anomalies multiples sur le SQA-Vision

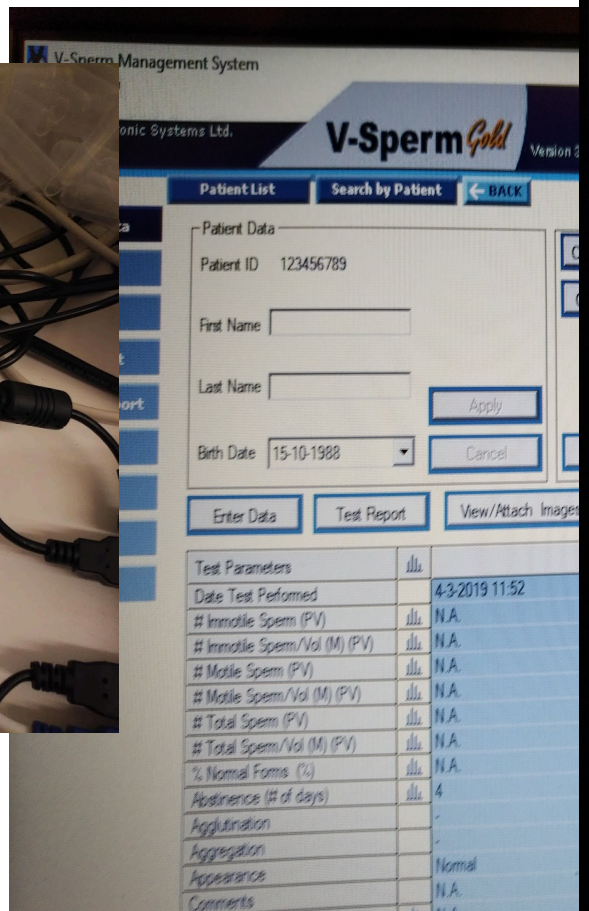
Jupiler
BELGISCHE PILS BELGE
QUALITÉ DANS CHAQUE GOUTTE.
BIÈRE BELGE BLONDE AVEC UN GOÛT RAFRAÎCHISSANT : TOUJOURS BRASSÉE AVEC LA LEVURE FRAÎCHE ET UNIQUE DE JUPILER. NOS MAÎTRES BRASSEURS À JUPILLE SE SONT SPÉCIALISÉS EN BIÈRES DE BASSE FERMENTATION AFIN DE GARANTIR UNE QUALITÉ PARFAITE. LA PREMIÈRE JUPILER PILS A VU LE JOUR EN 1966. DEPUIS, NOUS VIVONS BEAUCOUP DE BEAUX MOMENTS AUTOUR D'UNE JUPILER FRAÎCHE, LA PILS PRÉFÉRÉE DES BELGES.
KWALITEIT IN ELKE DRUPPEL.
BELGISCH BLOND BIER MET VERFRISSENDE SMAAK: GEBROUWEN MET DE ALTIJD VERSE EN UNIEKE GIST VAN JUPILER. ONZE BROUWERS IN JUPILLE SPECIALISEERDEN ZICH IN BIEREN VAN LAGE GISTING OM PERFECTE KWALITEIT TE GARANDEREN. DE EERSTE

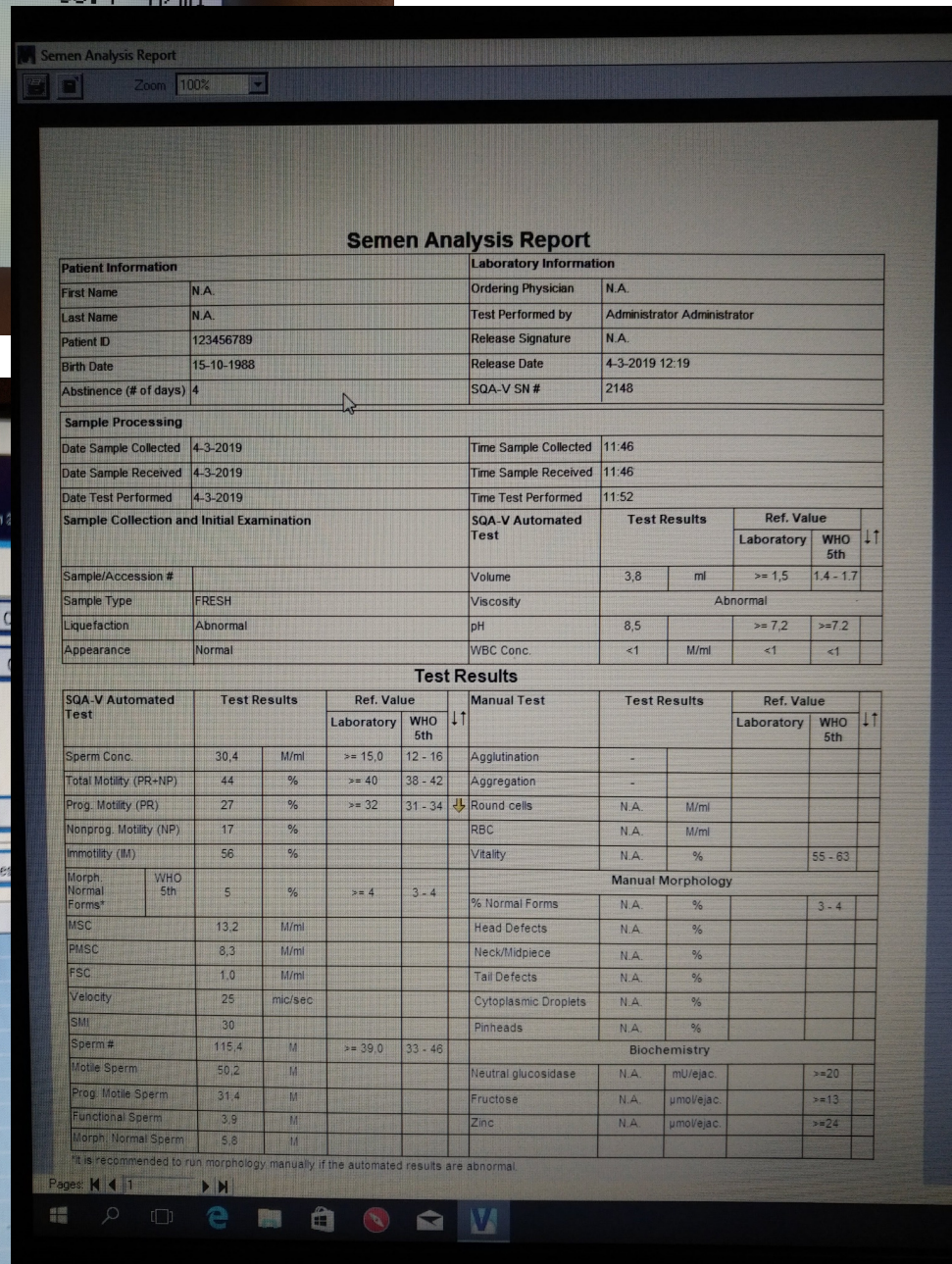
CHR. VERVIERS


SQA-V Gold
BRIGHTNESS
CONTRAST
COLOR
MAIN MENU
TEST NEW PATIENT
RUN CONTROLS
SERVICE




TEST RESULTS
SPERM CONC. 30.4 M/ml
TOTAL MOTILITY <PR+NP>
PROG. MOTILITY <PR>
NONPROG.MOTILITY <NP>
IMMOTILITY <IM>
MORPH.NORM.FORMS,WHO 5th


V-Sperm Management System
V-Sperm Gold
Patient List
Search by Patient
BACK
Patient Data
Patient ID 123456789
First Name
Last Name
Birth Date 15-10-1988
Apply
Cancel
Enter Data
Test Report
Test Parameters
Date Test Performed 4-3-2019 11:52
Immotile Sperm (PV) N.A.
Immotile Sperm/Vol (M) (PV) N.A.
Motile Sperm (PV) N.A.
Motile Sperm/Vol (M) (PV) N.A.
Total Sperm (PV) N.A.
Total Sperm/Vol (M) (PV) N.A.
% Normal Forms (%) N.A.
Abstinence (# of days) 4
Agglutination -
Aggregation -
Appearance Normal
Comments N.A.


Semen Analysis Report
Zoom 100%
Semen Analysis Report
Patient Information
First Name N.A.
Last Name N.A.
Patient ID 123456789
Birth Date 15-10-1988
Abstinence (# of days) 4
Laboratory Information
Ordering Physician N.A.
Test Performed by Administrator Administrator
Release Signature N.A.
Release Date 4-3-2019 12:19
SQA-V SN # 2148
Sample Processing
Date Sample Collected 4-3-2019
Time Sample Collected 11:46
Date Sample Received 4-3-2019
Time Sample Received 11:46
Date Test Performed 4-3-2019
Time Test Performed 11:52
Sample Collection and Initial Examination
Sample/Accession #
Sample Type FRESH
Liquefaction Abnormal
Appearance Normal
SQA-V Automated Test
Test Results
Ref. Value
Laboratory
WHO 5th
Volume 3,8 ml >= 1,5 1.4 - 1.7
Viscosity Abnormal
pH 8,5 >= 7,2 >=7.2
WBC Conc. <1 M/ml <1 <1
Test Results
SQA-V Automated Test
Sperm Conc. 30,4 M/ml >= 15,0 12 - 16
Total Motility (PR+NP) 44 % >= 40 38 - 42
Prog. Motility (PR) 27 % >= 32 31 - 34
Nonprog. Motility (NP) 17 %
Immotility (IM) 56 %
Morph. Normal Forms* WHO 5th 5 % >= 4 3 - 4
MSC 13,2 M/ml
PMSC 8,3 M/ml
FSC 1.0 M/ml
Velocity 25 mic/sec
SMI 30
Sperm # 115,4 M >= 39.0 33 - 46
Motile Sperm 50,2 M
Prog. Motile Sperm 31.4 M
Functional Sperm 3.9 M
Morph. Normal Sperm 5.8 M
Manual Test
Agglutination -
Aggregation -
Round cells N.A. M/ml
RBC N.A. M/ml
Vitality N.A. % 55 - 63
Manual Morphology
% Normal Forms N.A. % 3 - 4
Head Defects N.A. %
Neck/Midpiece N.A. %
Tail Defects N.A. %
Cytoplasmic Droplets N.A. %
Pinheads N.A. %
Biochemistry
Neutral glucosidase N.A. mU/ejac. >=20
Fructose N.A. µmol/ejac. >=13
Zinc N.A. µmol/ejac. >=24
*it is recommended to run morphology manually if the automated results are abnormal.
Pages: 1

Evaluation du SQA-Vision à SLBO

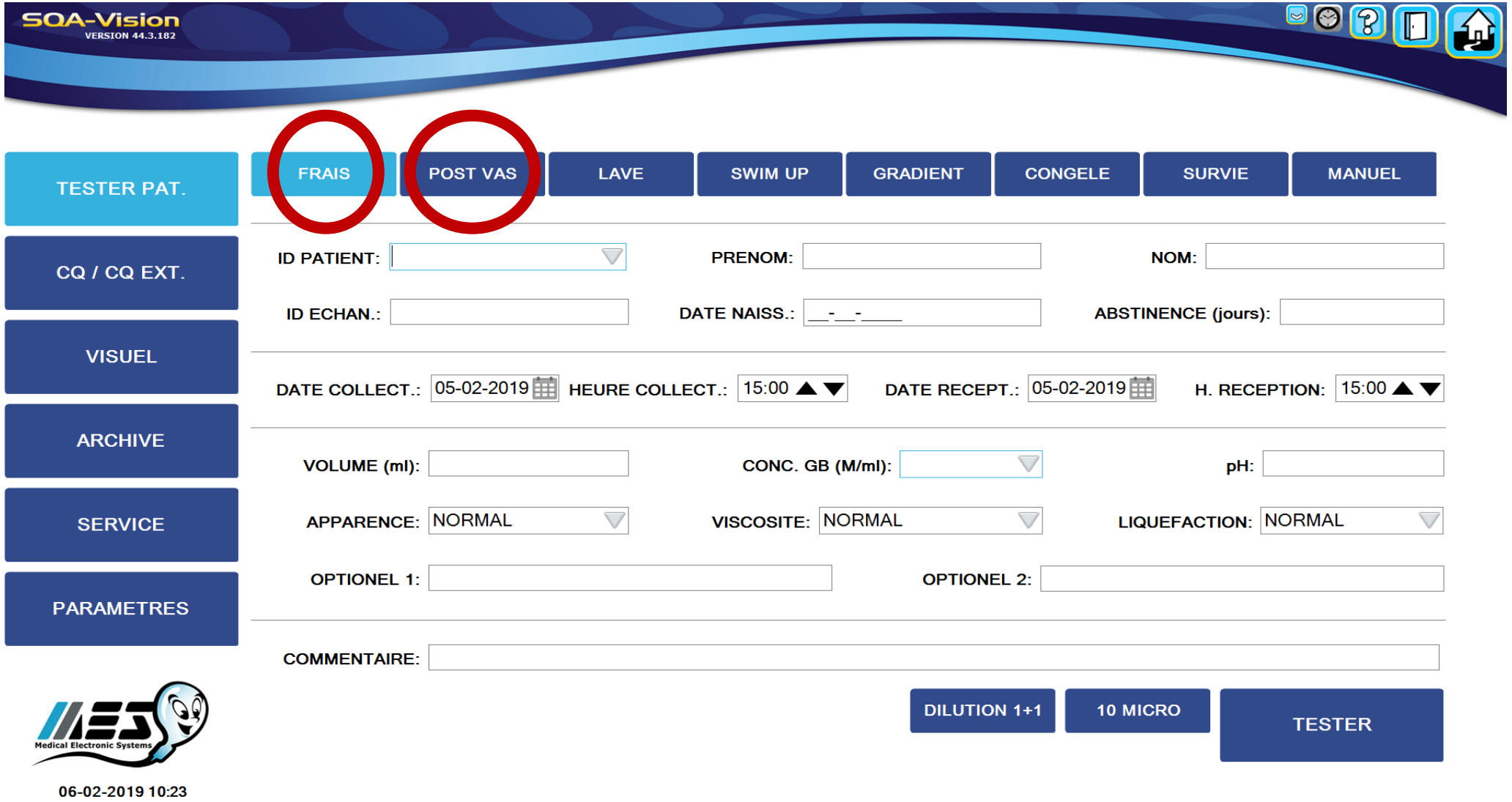
Clinique Saint-Luc
Bouge

- Déroulement de l'évaluation:
  - Mise à disposition de l'automate le 23 janvier 2019 jusqu'à ce jour☺
  - Evaluation de la morphologie, mobilité, vitalité, concentration en SZ entre méthode manuelle (notre référence) et SQA vision
  - Evaluation des tigettes à pH et globules blancs
  - Evaluation des lames pré-colorées (morphologie)
  - Accents de cette évaluation mis sur
    - User's friendliness
    - Gain de temps (ou pas) par rapport à méthodes manuelles
    - Fiabilité et concordance des résultats entre les 2 méthodes

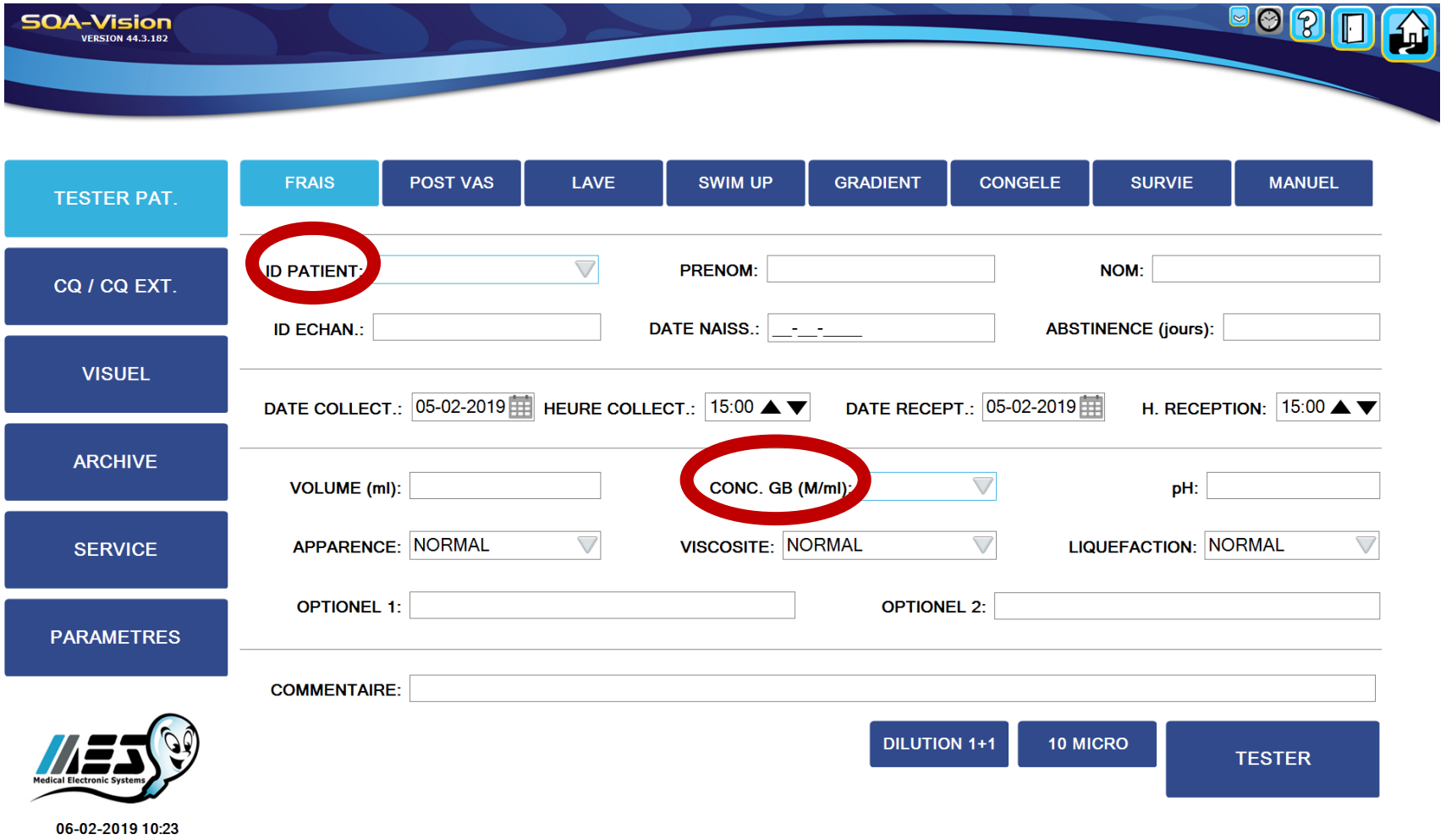
Numéro échantillon	Spermogramme classique		Alere SQA-Vision
	Technologue	**HP**	**HP**
Heure de lecture			
pH			
Globules blancs			
Cellules rondes			
volume			
Mobilité			
Déplacement satisfaisant (PR) %			
Déplacement limité (NP) %			
Immobile (IM) %			
Estimation sur les PR : classe a			
Estimation sur les PR : classe b			
Nécrospermie			
% de vivants (blanc)			
% de morts (Rose)			
Temps pour estimer la vitalité (min)			
Concentration des SZ:			
% formes normales			
anomalies de la tête			
anomalies de la pièce intermédiaire			
anomalies la pièce principale			
anomalies cytoplasmiques			
% Pinhead			
Remarque			

WINTER IS COMING
PATIENT FOR SPERMOGRAMS ISN'T

2 modes principalement utilisés : à frais et post-vasectomie

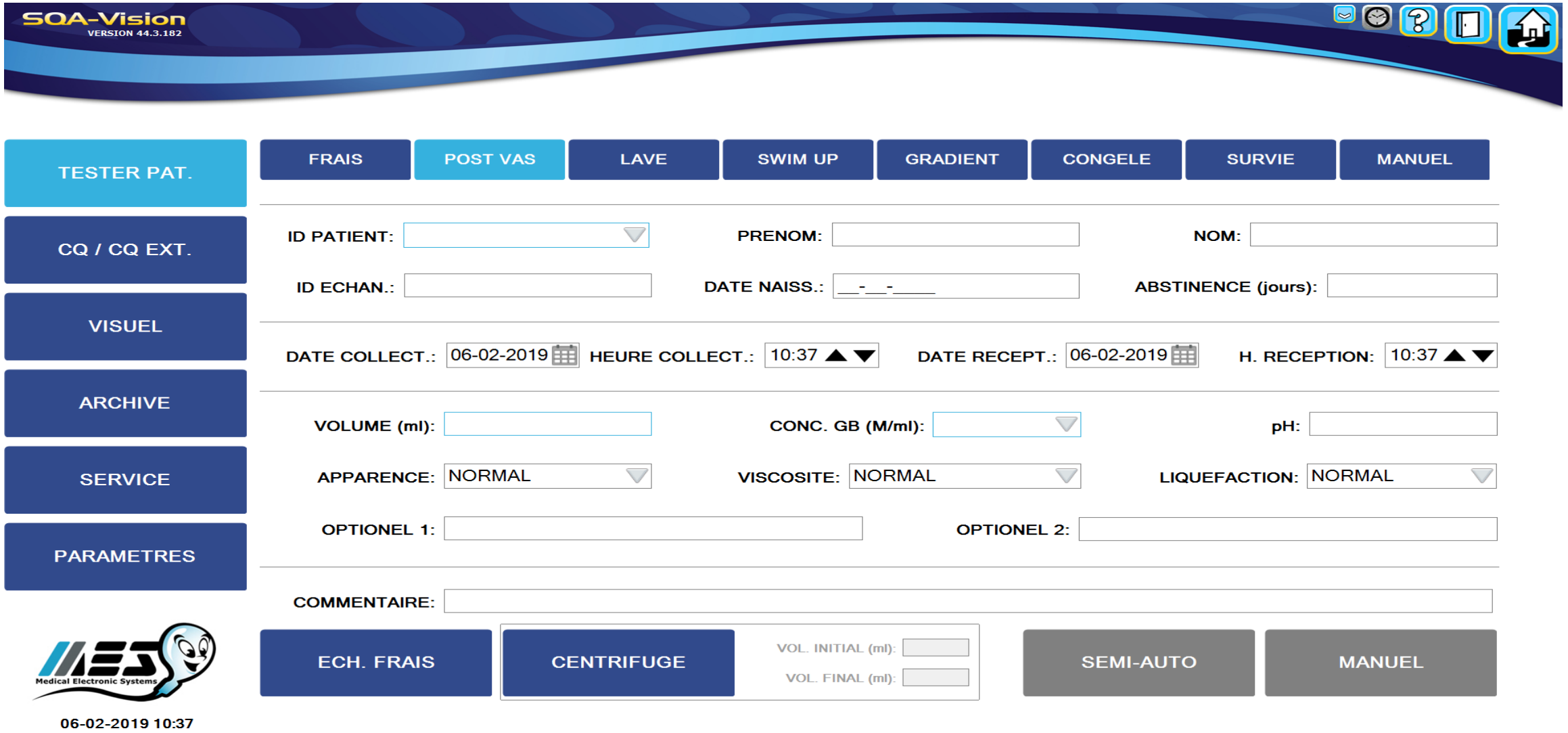


Champs obligatoires

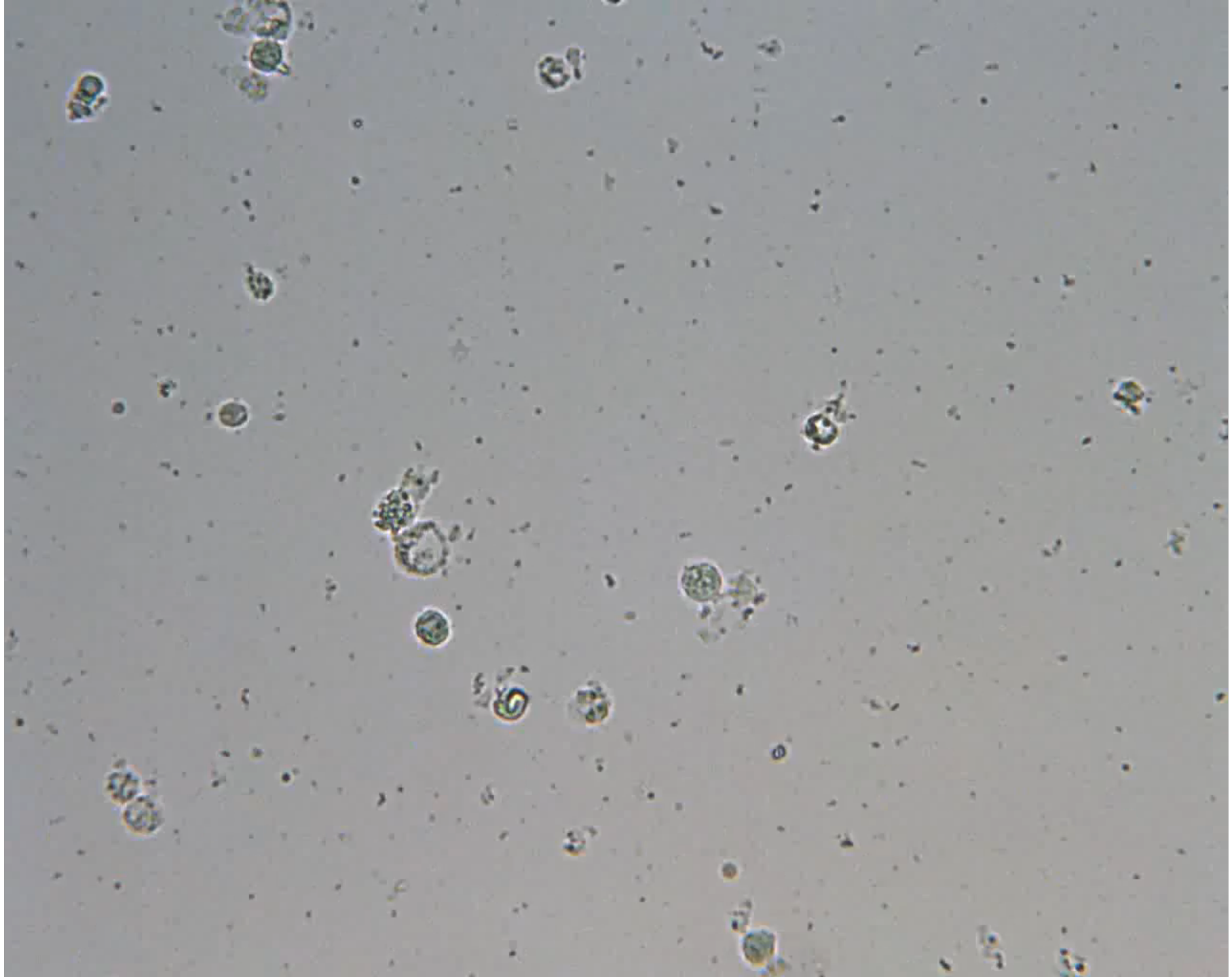


Mode normal

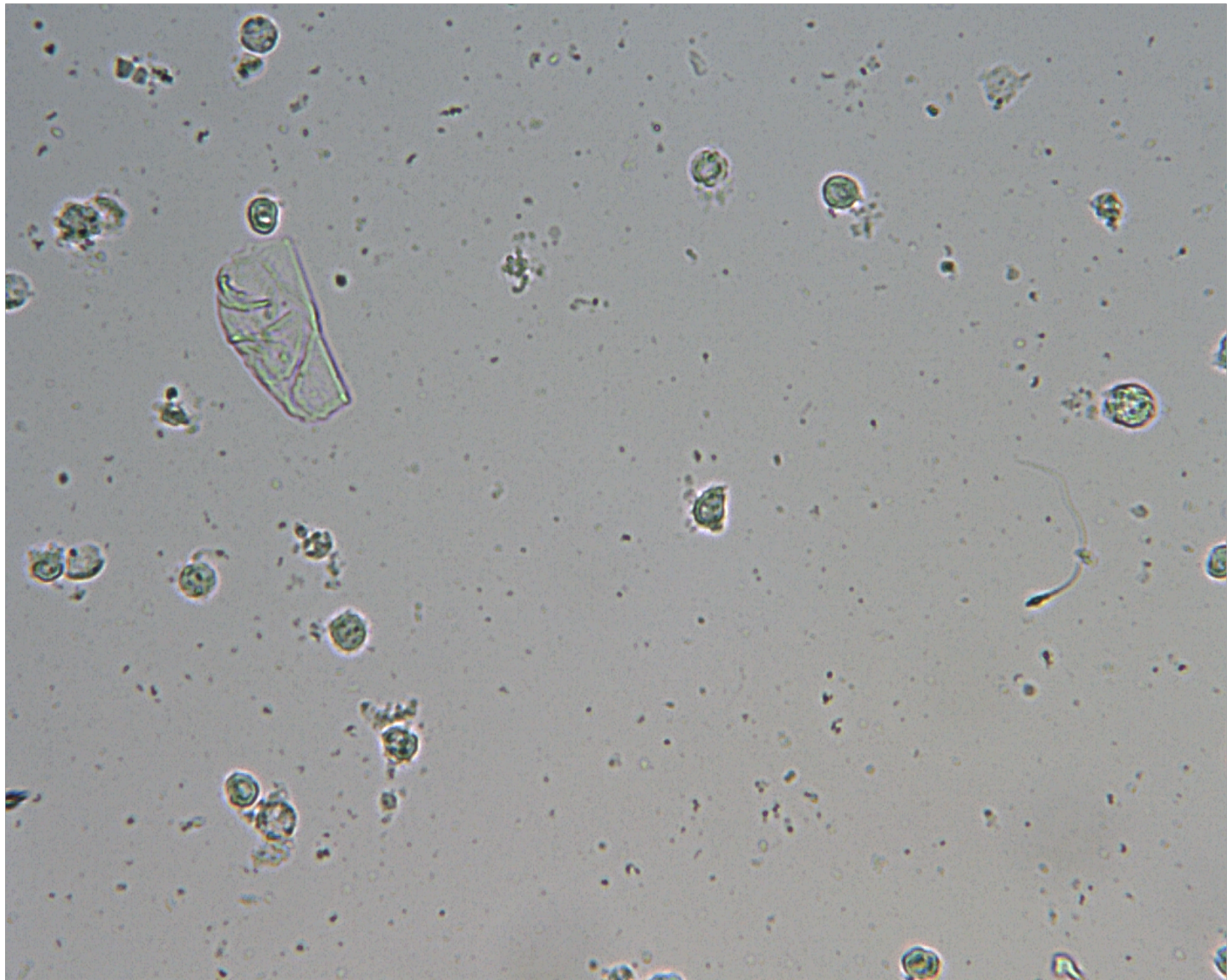
Mode post-vasectomie

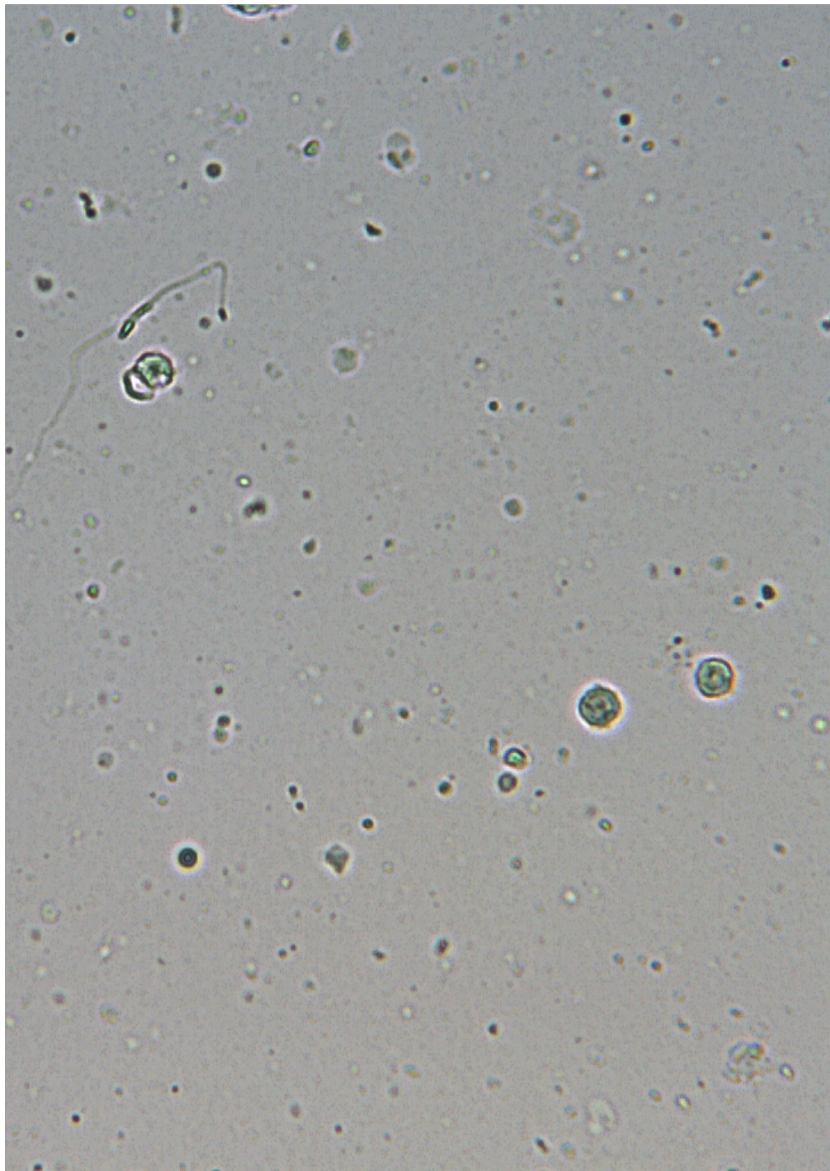


SQA-Vision
VERSION 44.3.182
TESTER PAT.
CQ / CQ EXT.
VISUEL
ARCHIVE
SERVICE
PARAMETRES
Medical Electronic Systems
14-03-2019 17:14
COMPTEUR POST-VASECTOMIE
MELANGER LE SPERME SOIGNEUSEMENT SVP
PREP. UNE LAME ET INSERER-LA DANS LA PARTIE VISUALISATION
PRESSER SUR FULL ZOOM ET AJUSTER LE FOCUS
INTRODUIRE LE COMPTAGE DES SPZ DANS LES CHAMPS APPROPRIES
PASSER AU CHAMP SUIVANT ET REPETER L'OPERATION
NE PLUS MONTRER CE MESSAGE
SUIV.
ER DERN.
. TOUT
ES: 0
S: 0
PAS DE SPZ VU:
RAFRAICHIR
AVEC GRILLE
ECRAN LARG.
PAUSE
PARAMETRES
RESULTATS

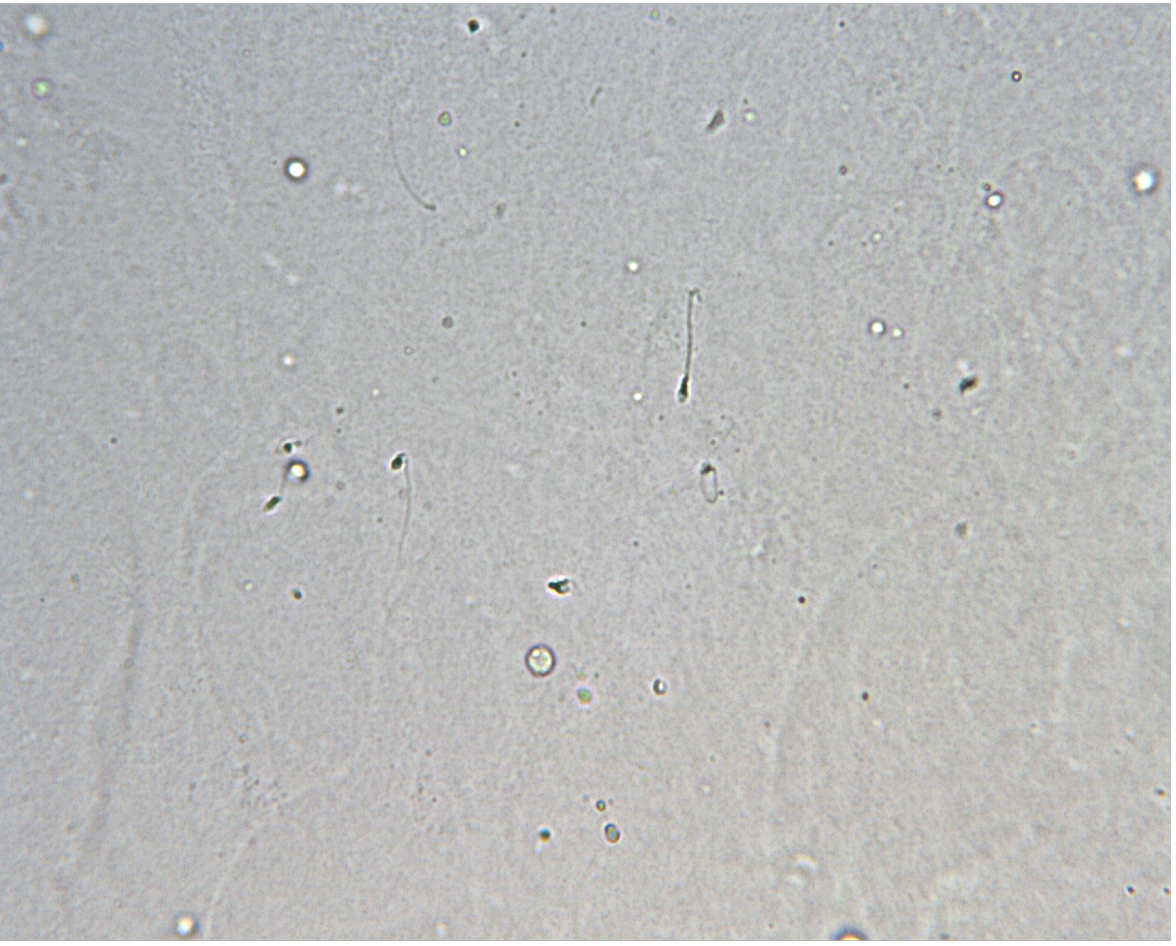


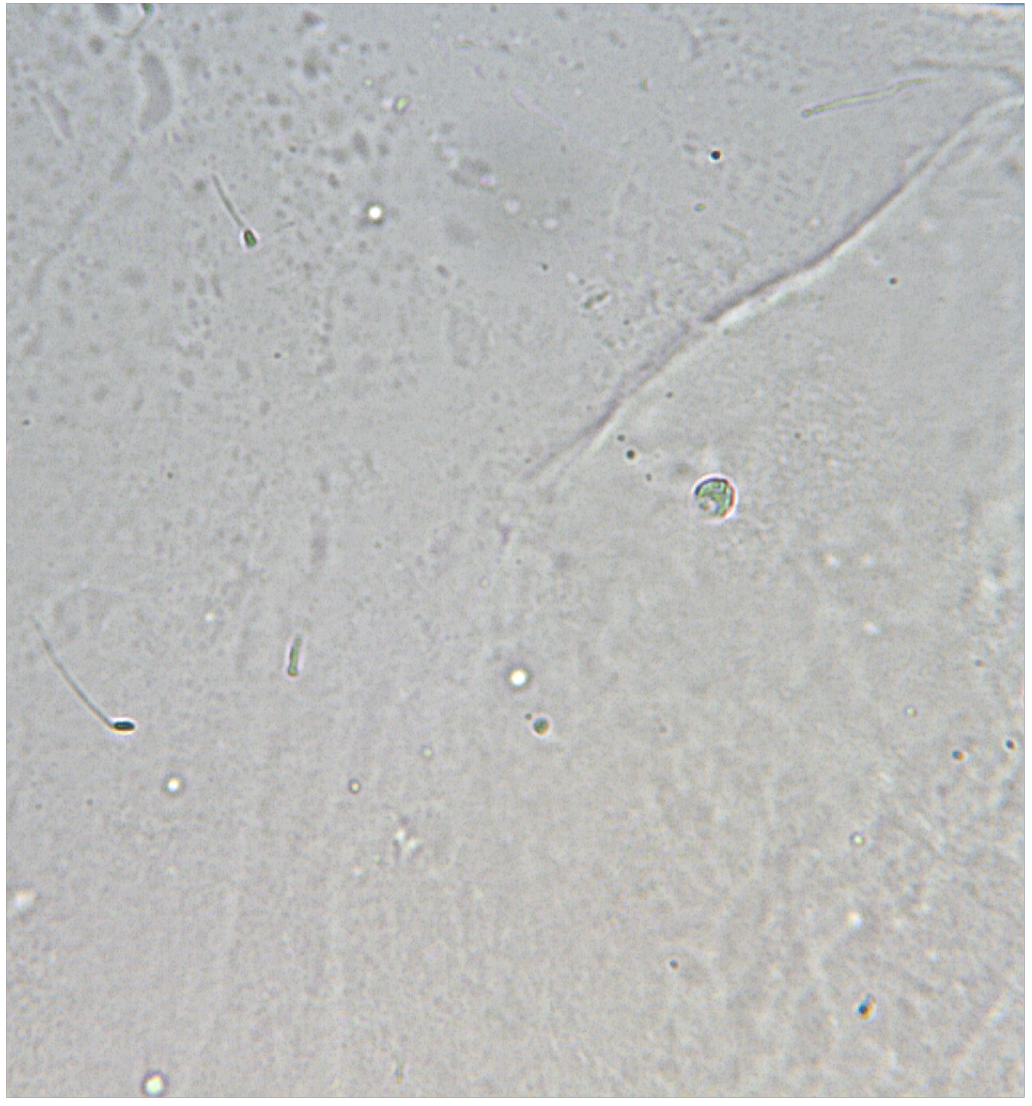
SZ visualisés sur échantillon à frais





SZ visualisés sur le culot de centrifugation





SQA-Vision
VERSION 44.3.182
TESTER PAT.
CQ / CQ EXT.
VISUEL
ARCHIVE
SERVICE
PARAMETRES
Medical Electronic Systems
14-03-2019 17:14
COMPT. POST VASECTOMIE
ATE NAISS/AGE:
YPE TEST: POST VAS.
PTIONS: MANUEL / CENTRIF.
RITERE: WHO 5TH
CH. SUIV.
EFFACER DERN.
EFF. TOUT
L SPZ COMPTES: 0
AGES SAUVEES: 0
SELECTIONNER "PAS DE SPZ OBSERVES" IMPLIQUE L'ECRASEMENT DES RESULTAS PRECEDENTS
CONTINUER?
OUI
NON
PAS DE SPZ VU:
RESULTATS
RAFRAICHIR
AVEC GRILLE
ECRAN LARG.
PAUSE
PARAMETRES

SQA-Vision
VERSION 44.3.182

TESTER PAT.

CQ / CQ EXT.

VISUEL

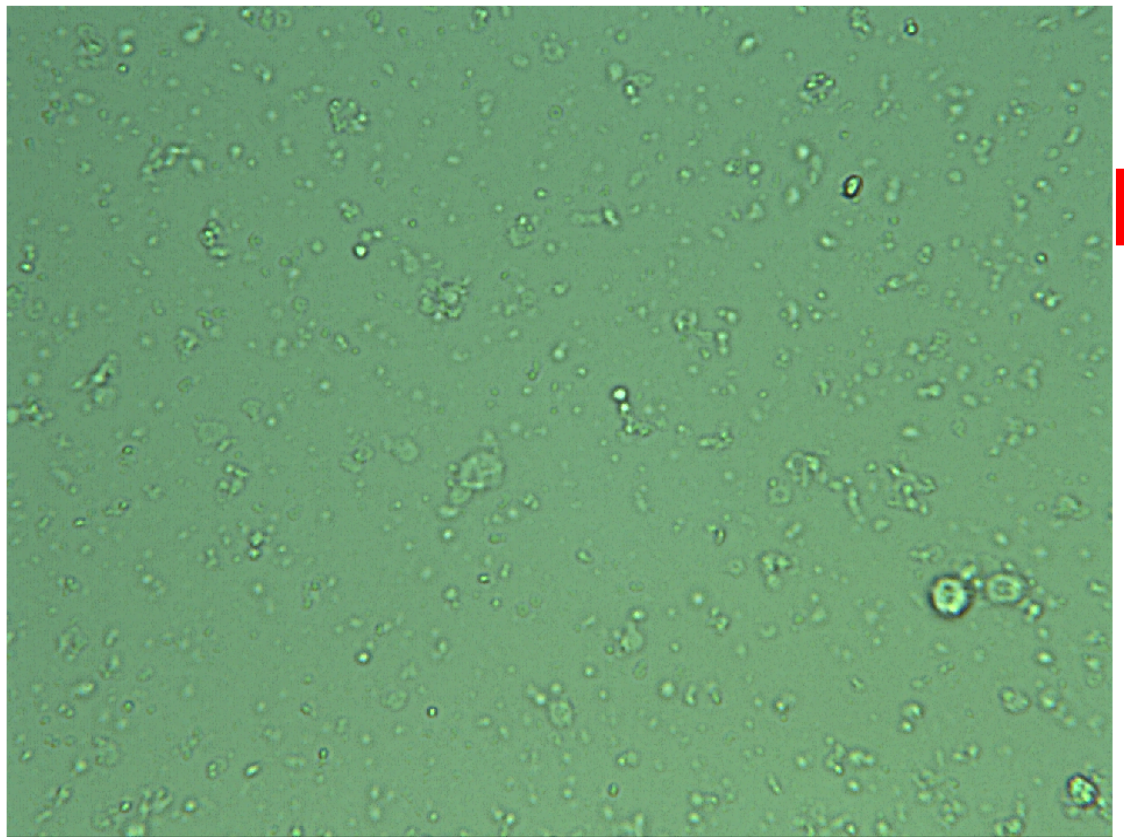
ARCHIVE

SERVICE

PARAMETRES

Medical Electronic Systems

19-03-2019 10:19



RAFRAICHIR | AVEC GRILLE | ECRAN LARG. | PAUSE | PARAMETRES

COMPT. POST VASECTOMIE

ZOOM OUT POUR VISUALISER

ID PATIENT: 9073489	DATE NAISS/AGE:
NOM PATIENT:	TYPE TEST: POST VAS.
ID ECHAN.:	OPTIONS: SEMI-AUTO / FRAIS

SPZ MOBILES DETECTES AUTOMAT.: 254

MOBILE F9 | IMMOBILE F10 | CH. SUIV.

ENREG. VIDEO | ENREG. IMAGE | EFFACER DERN. | EFF. TOUT

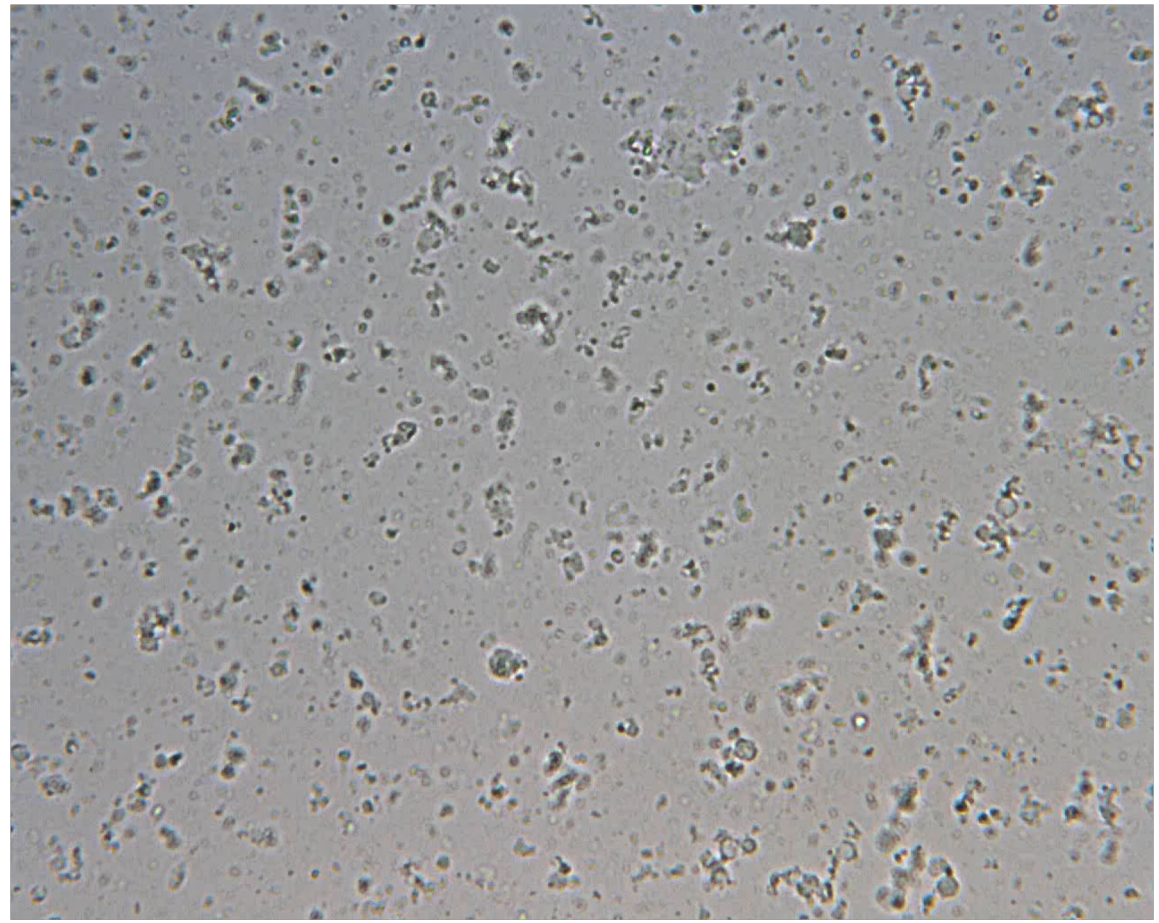
ECH FRAIS (NON CENTRIF.)

CHAMPS COMPT.: 0 | TOTAL SPZ COMPTES: 0

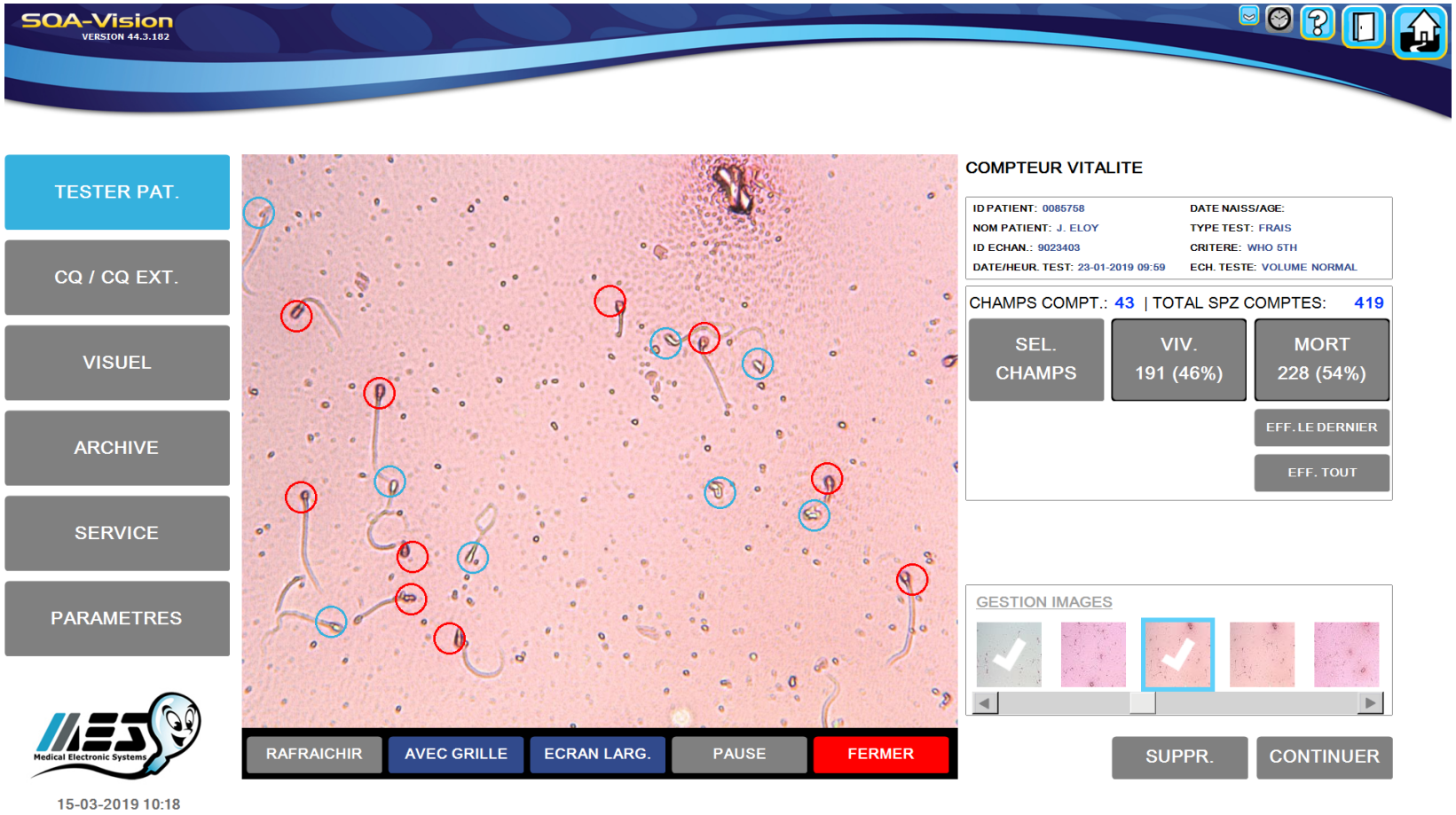
VIDEOS ENREGIST.: 0 | IMAGES SAUVEES: 0

PAS DE SPZ VU: ☐

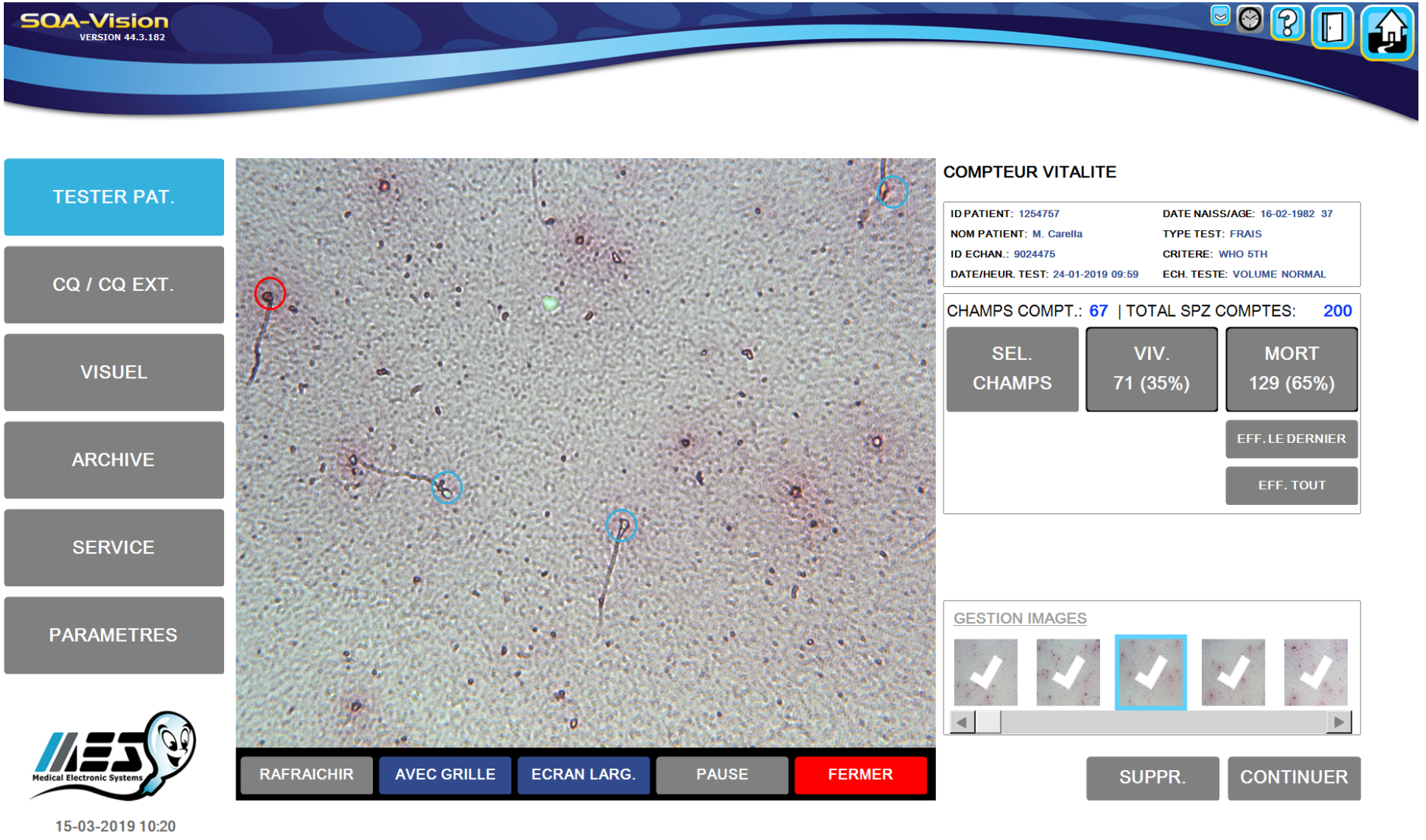
RESULTATS



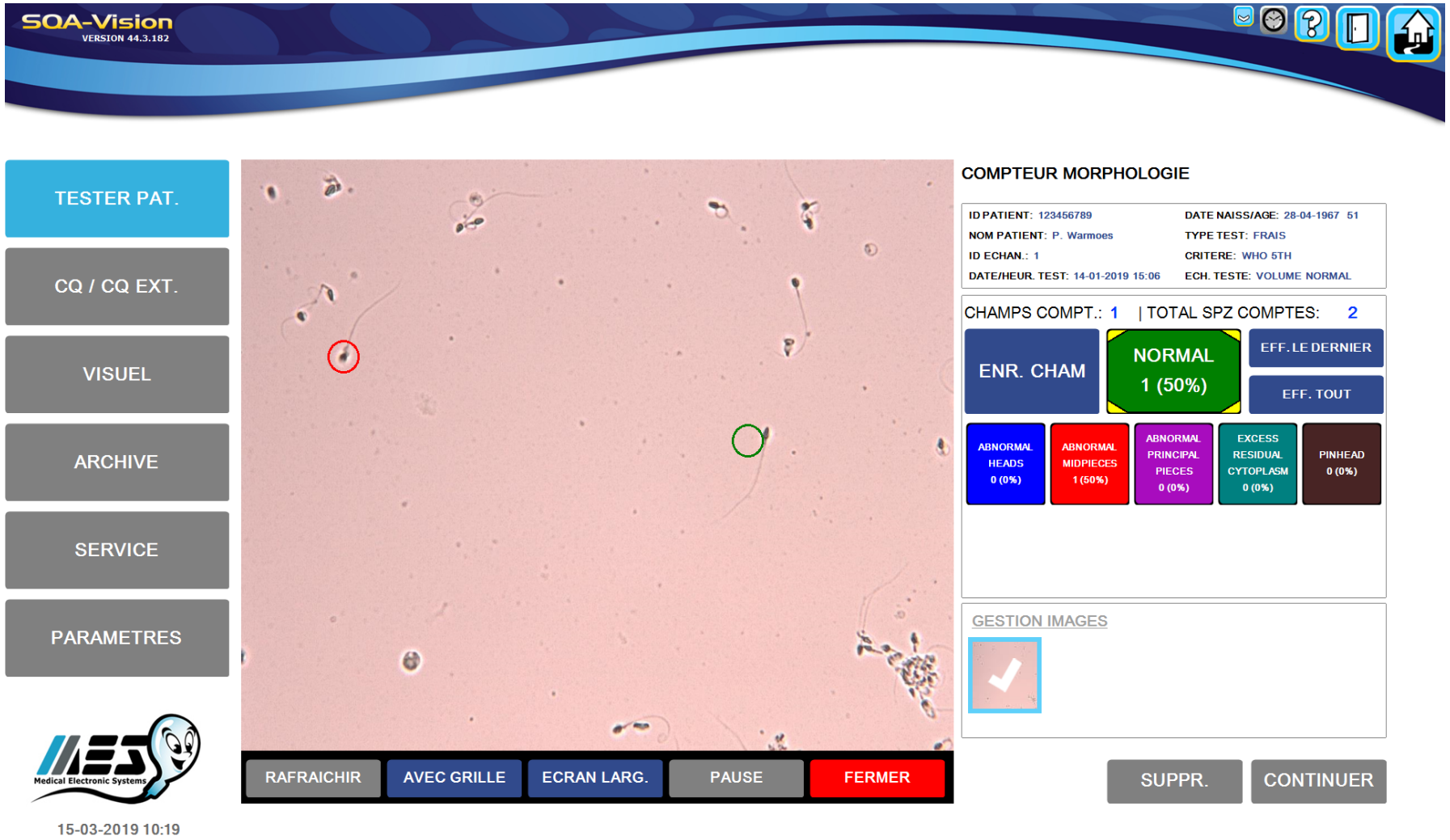
Balance entre gain de temps et qualité-traçabilité



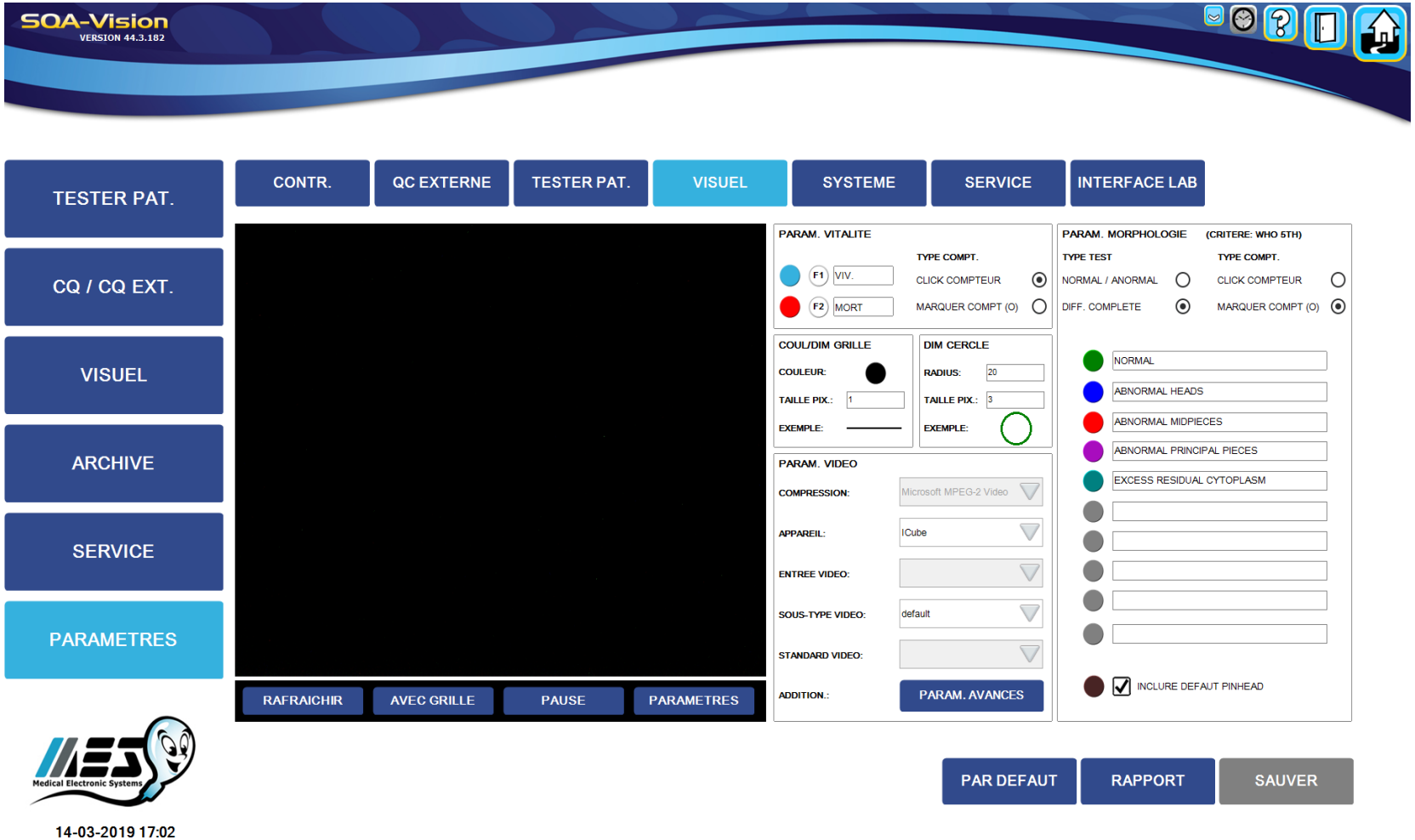
Balance entre gain de temps et qualité-traçabilité



Balance entre gain de temps et qualité-traçabilité



Balance entre gain de temps et qualité-traçabilité



Bilan rapidité

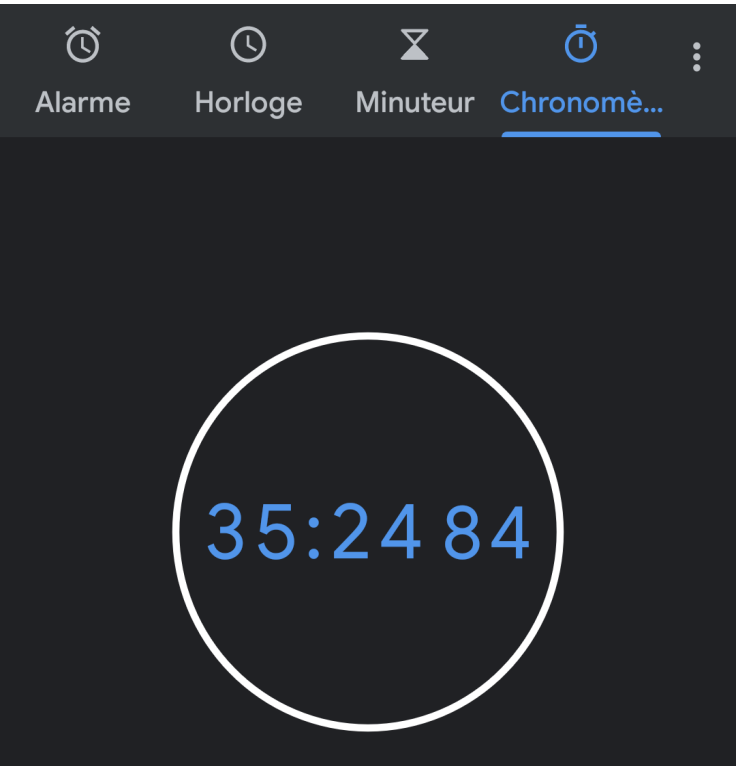
23èmes journées de la FFER
12-14 Septembre 2018
Lyon

Les avantages d'une analyse automatisée du sperme.

C. Fraselle, C. Wittemer, R. Wasels
LABORATOIRE ESPACEBIO, CENTRE D'AMP DE METZ

- L'automatisation de l'analyse a été possible dans **trois quart des cas**.
- Le passage d'un sperme sur l'automate + la lecture manuelle de la cytologie offre un **gain de temps de 19 minutes** par rapport à une analyse classique.
- **Une automatisation complète de l'examen permet un gain de temps de 51 minutes**.
- Il a été décidé d'accepter une discordance de moins de 5% entre les pourcentages de formes typiques rendus par les deux techniques pour considérer le résultat rendu par l'automate comme fiable. → **L'évaluation de la concordance entre ces chiffres a permis de diminuer notre seuil d'acceptation du résultat rendu par le SQA-V à 7%.**

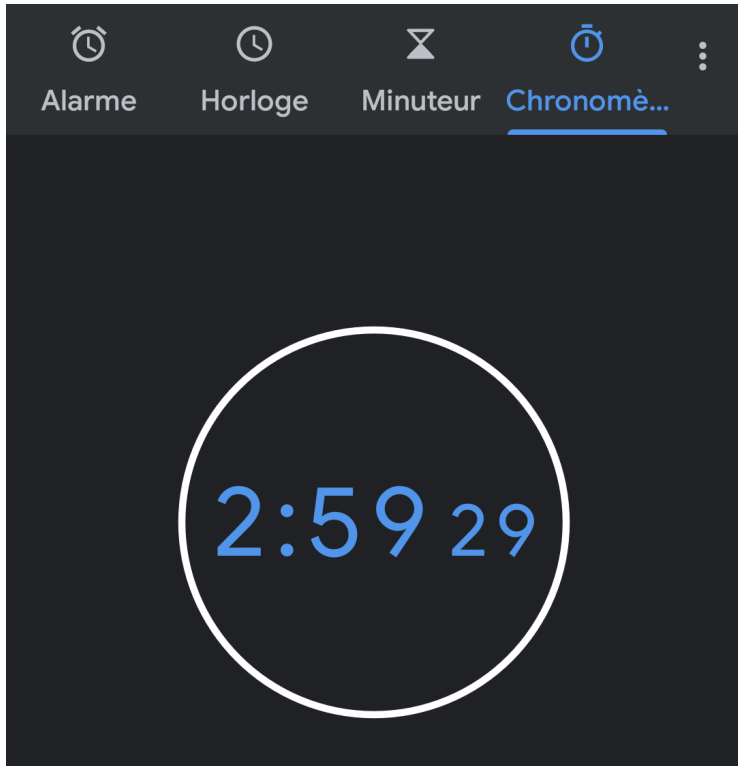
TECHNIQUE MANUELLE



Temps nécessaire pour concentration, mobilité

Temps moyen pour répondre la morphologie

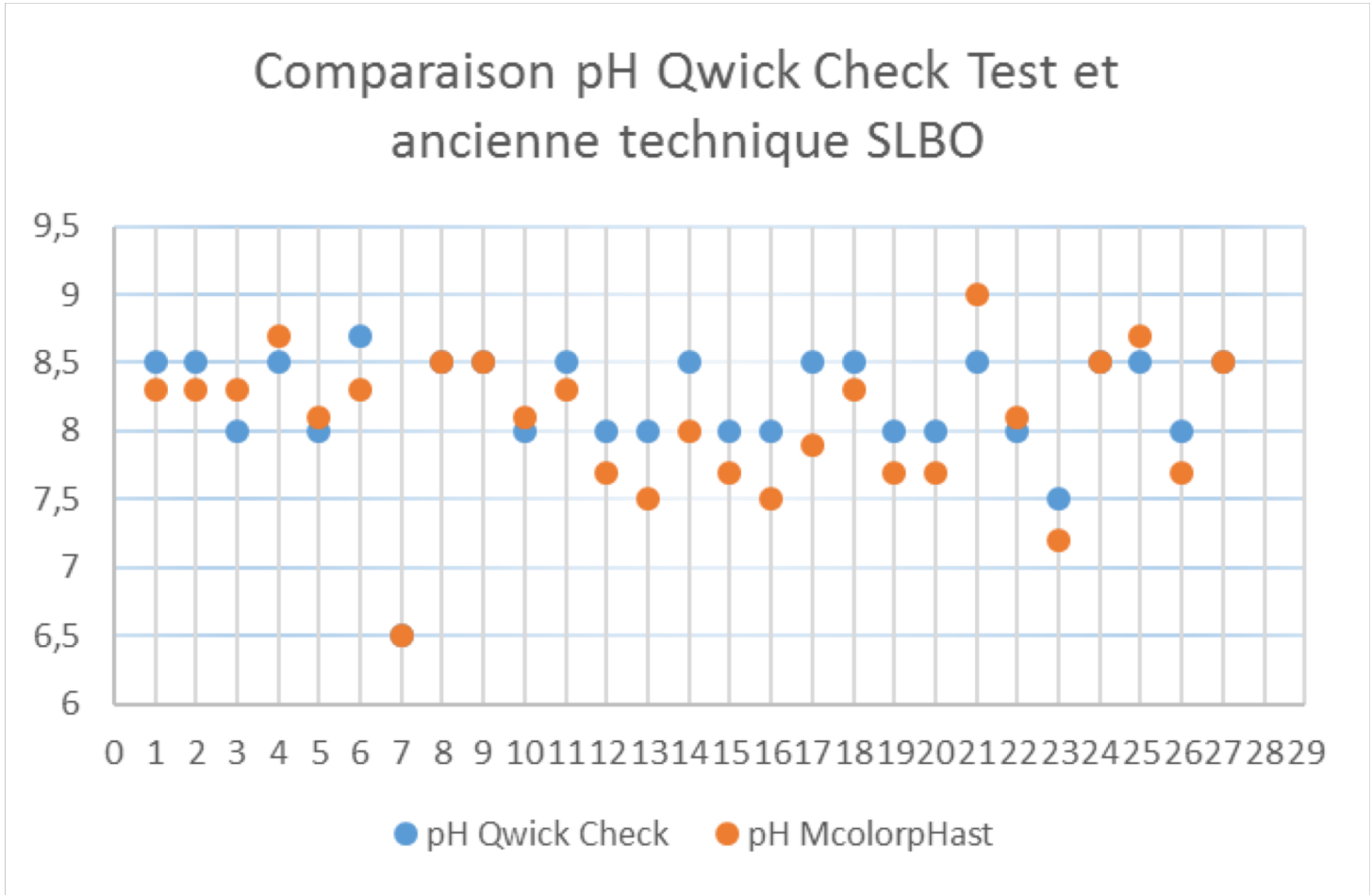
SQA-VISION

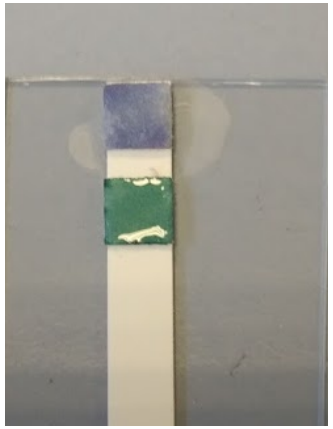


Temps nécessaire pour concentration, mobilité et screening formes normales

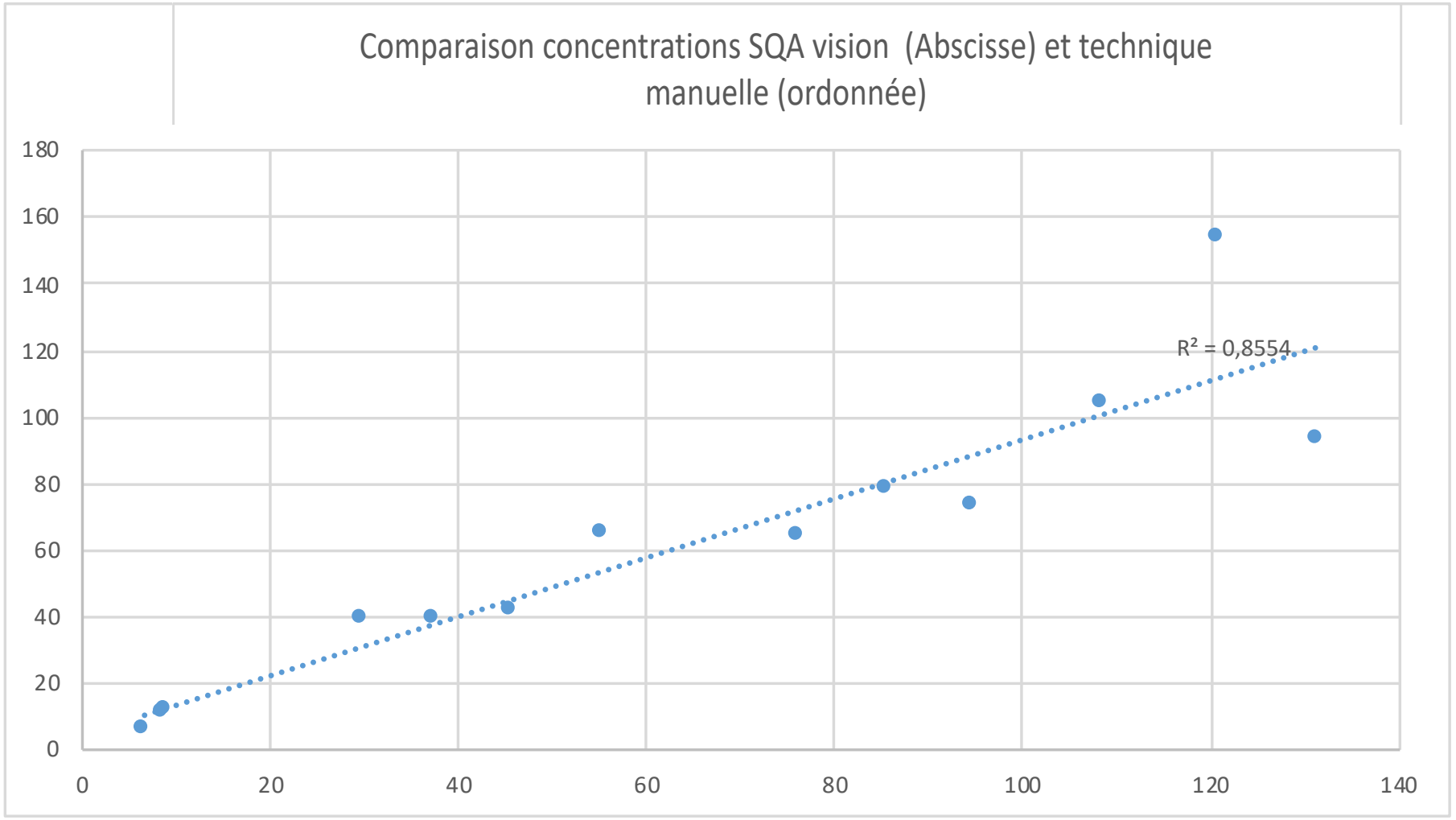
Tigettes à pH QwickCheck Test Strips

- Evaluation par rapport à ancienne technique SLBO (McolorpHast)

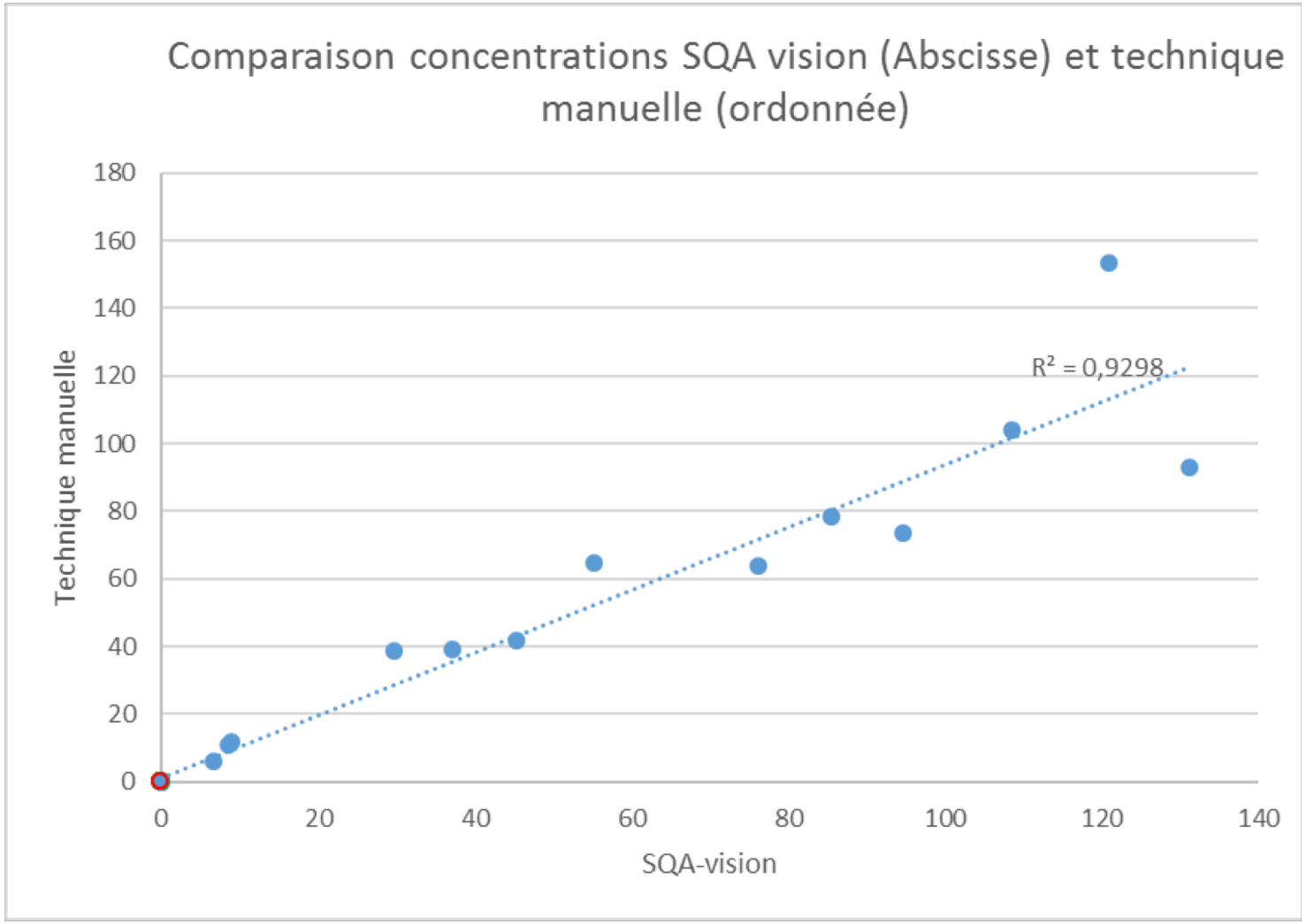




Concentration (échantillons non post-vasectomie)



Concentrations (tous les échantillons)



Concentrations (échantillons post-vasectomie)

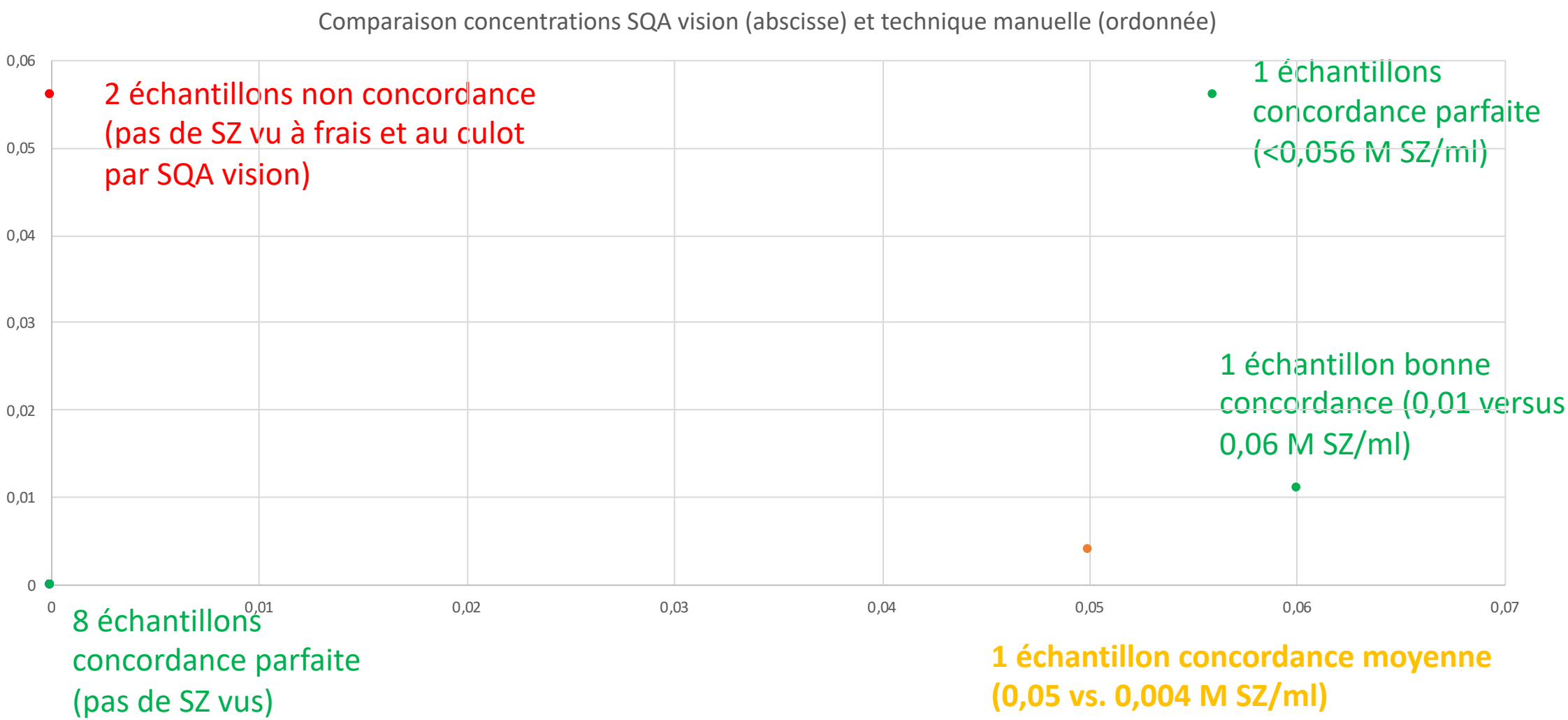


Table 2.1 Acceptable differences between two percentages for a given average, determined from replicate counts of 200 spermatozoa (total 400 counted)

Average (%)	Acceptable Difference*
0	1
1	2
2	3
3–4	4
5–7	5
8–11	6
12–16	7
17–23	8
24–34	9
35–65	10

Average (%)	Acceptable Difference*
66–76	9
77–83	8
84–88	7
89–92	6
93–95	5
96–97	4
98	3
99	2
100	1

*Based on the rounded 95% confidence interval.

WHO 5th edition

Mobilité progressive

Numéro prélèvement	PR Alere	PR Manuelle	Moyenne	Différence	Différence acceptable	Acceptation?
1	14	14	14	0	7	OK
4	21	26	23,5	5	9	OK
9	1	6	3,5	5	4	KO
10	13	8	10,5	5	6	OK
11	34	22	28	12	9	KO
12	34	33	33,5	1	9	OK
15	26	20	23	6	8	OK
16	36	28	32	8	9	OK
17	28	22	25	6	9	OK
18	41	19	30	22	9	KO
19	42	53	47,5	11	10	KO

Limite mobilité progressive (PR): 32% ➔ 2 échantillons cliniquement problématique (le n°11 et le n°18)

Mobilité non progressive

NP Alere	NP Ancienne technique	Moyenne	Différence	Différence acceptable	Acceptation?
12	32	22	20	8	KO
42	16	29	26	9	KO
30	12	21	18	8	KO
12	3	7,5	9	6	KO
8	12	10	4	6	OK
12	18	15	6	7	OK
17	16	16,5	1	8	OK
13	21	17	8	8	OK
21	24	22,5	3	8	OK
11	20	15,5	9	7	KO
13	5	9	8	6	KO

Mobilité totale

Mobilité totale SQA vision	Mobilité totale Manuelle	Moyenne	Différence	Différence acceptable	Acceptation
26	46	36	20	10	KO
63	42	52,5	21	10	KO
31	18	24,5	13	9	KO
25	11	18	14	8	KO
42	34	38	8	10	OK
46	51	48,5	5	10	OK
43	36	39,5	7	10	OK
49	49	49	0	10	OK
49	46	47,5	3	10	OK
52	39	45,5	13	10	KO
55	58	56,5	3	10	OK
67	54	60,5	13	10	KO

Limite basse de mobilité totale (PR + NP) : 40% ➔ 2 échantillons cliniquement problématiques

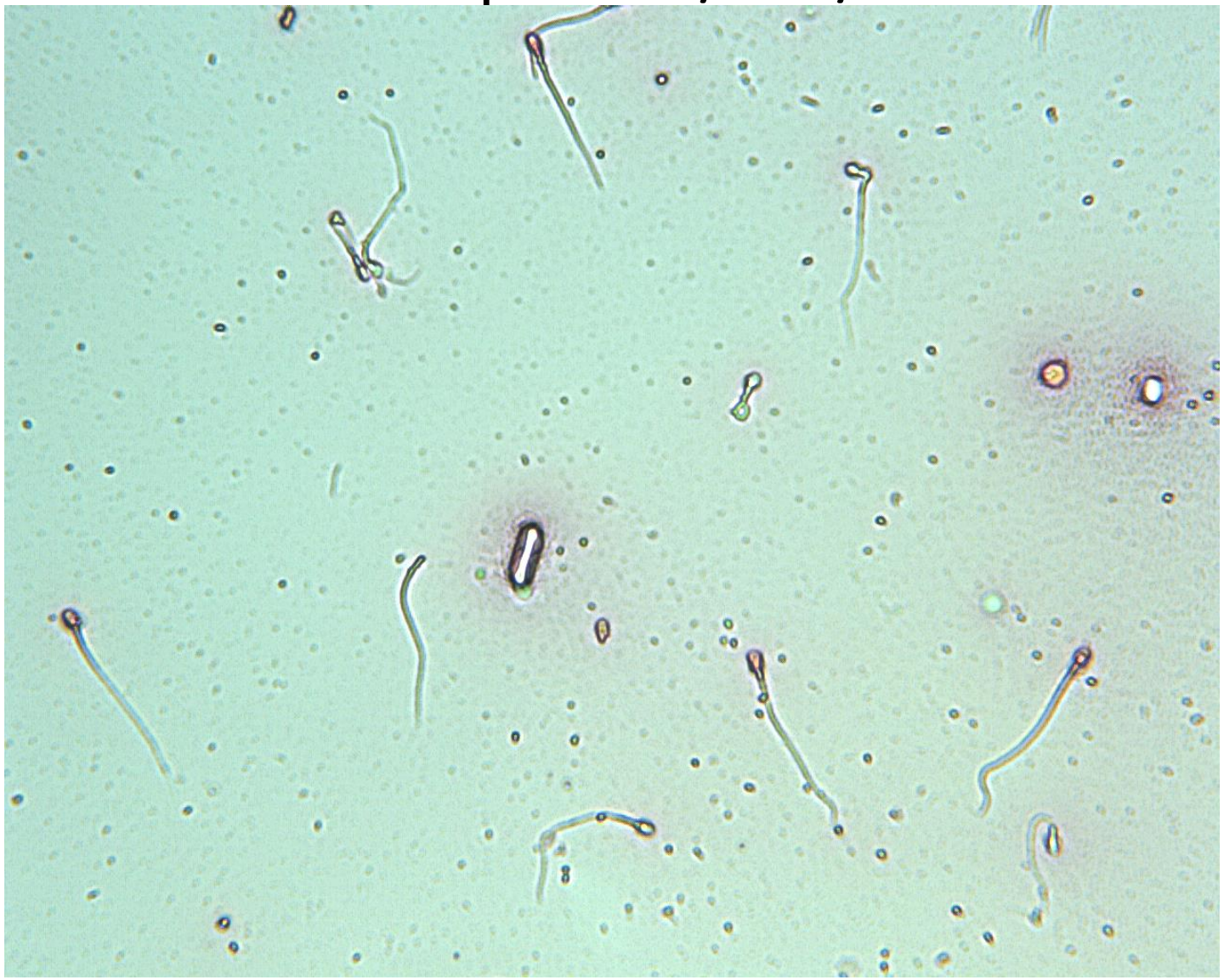
Immobiles

IM Alere	IM Ancienne technique	Moyenne	Différence	Différence acceptable	Acceptation?
74	54	64	20	10	KO
37	58	47,5	21	10	KO
69	82	75,5	13	9	KO
75	89	82	14	8	KO
58	66	62	8	10	OK
54	49	51,5	5	10	OK
57	64	60,5	7	10	OK
51	51	51	0	10	OK
51	54	52,5	3	10	OK
48	61	54,5	13	10	KO
45	42	43,5	3	10	OK

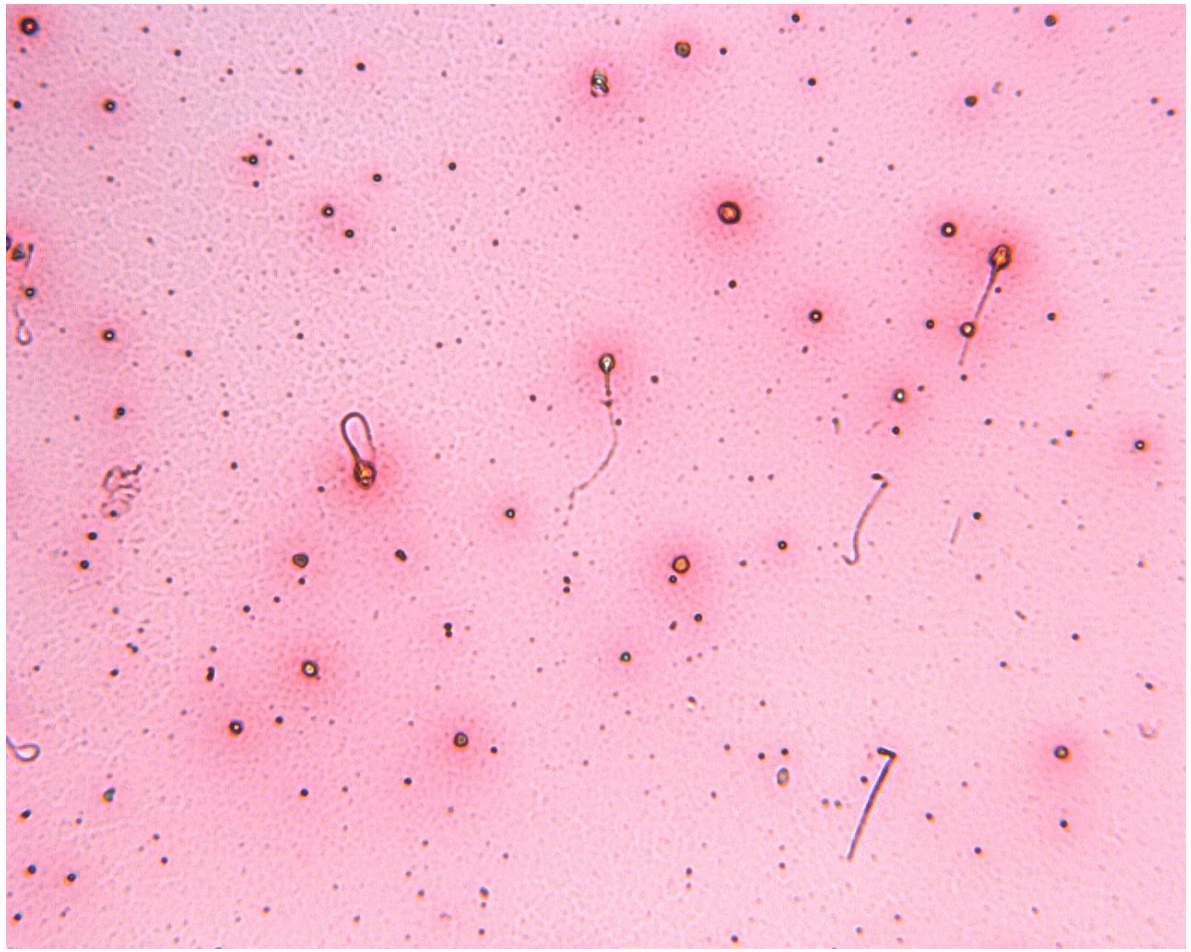
% Formes normales

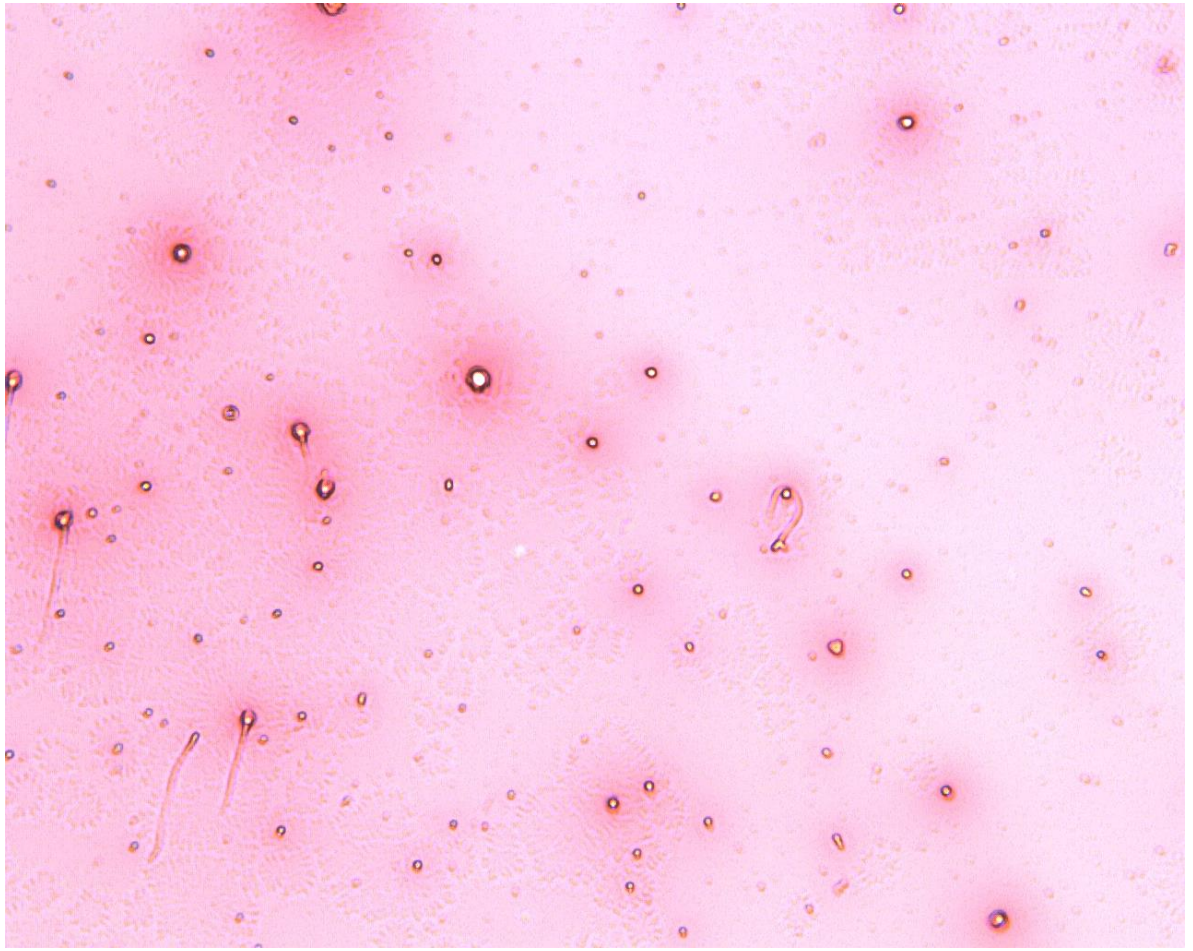
Nles Alere	Nles Ancienne technique	Moyenne	Différence	Différence acceptable	Acceptation?
3	3	3	0	4	OK
4	2	3	2	4	OK
3	5,5	4,25	2,5	5	OK
6	8,5	7,25	2,5	6	OK
8	2,5	5,25	5,5	5	KO
5	5	5	0	5	OK
8	5,5	6,75	2,5	5	OK
6	3,5	4,75	2,5	5	OK
10	8	9	2	4	OK
10	9	9,5	1	6	OK
12	10,5	11,25	1,5	6	OK

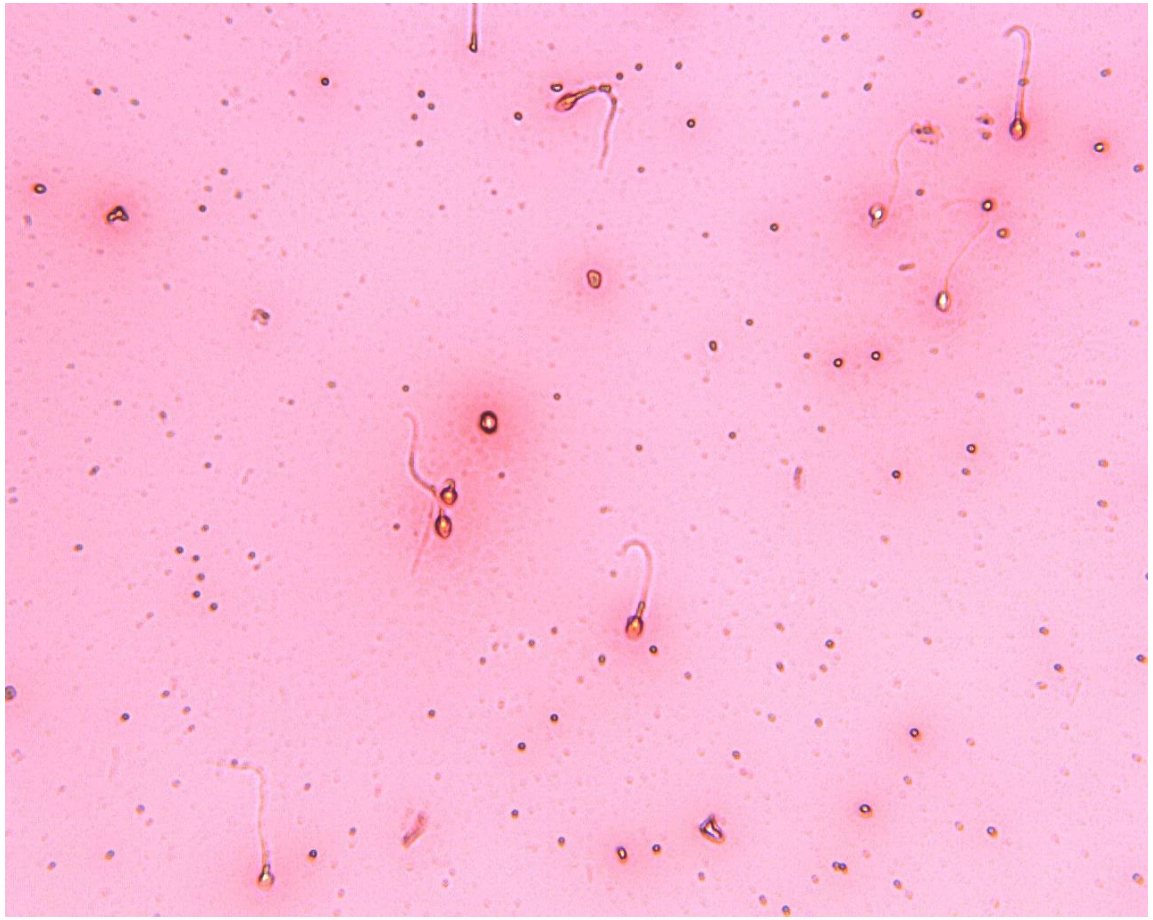
Vitalité au microscope 24/01/2019

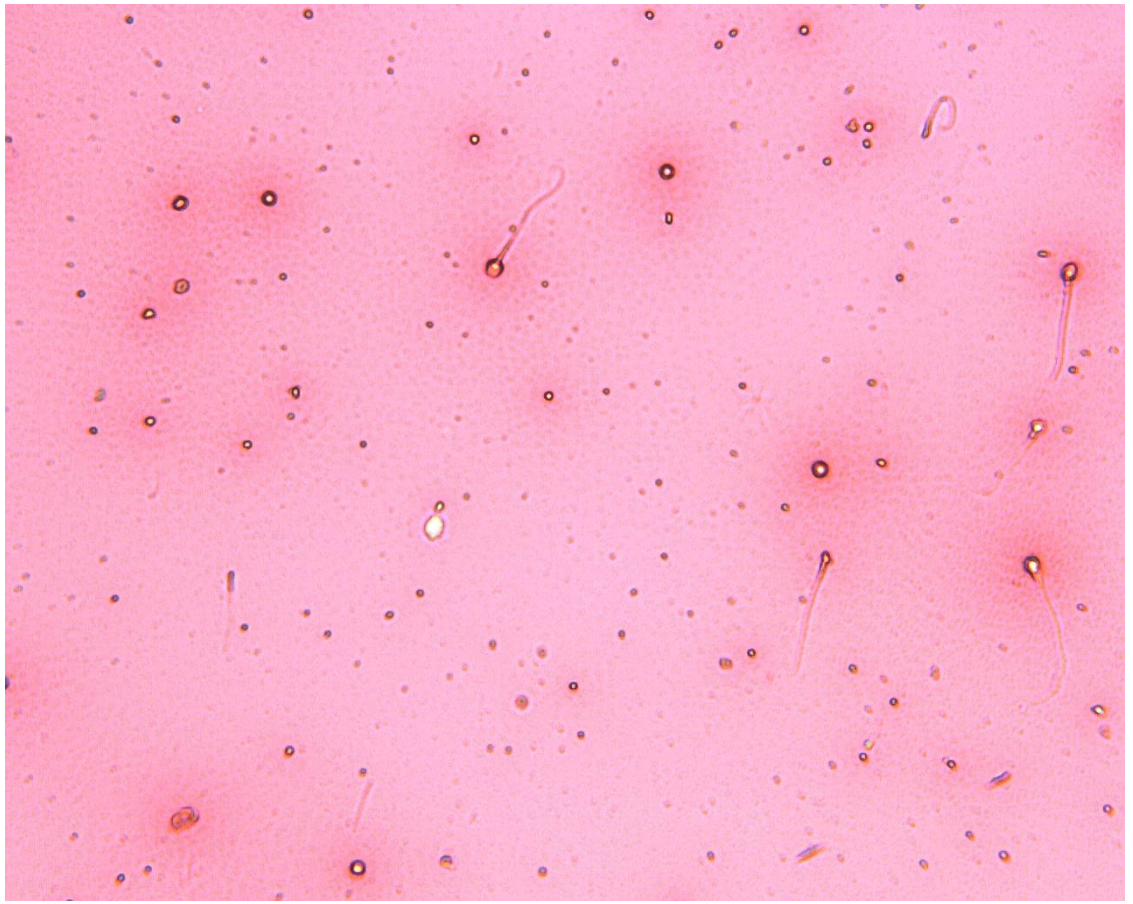


Vitalité au SQA vision

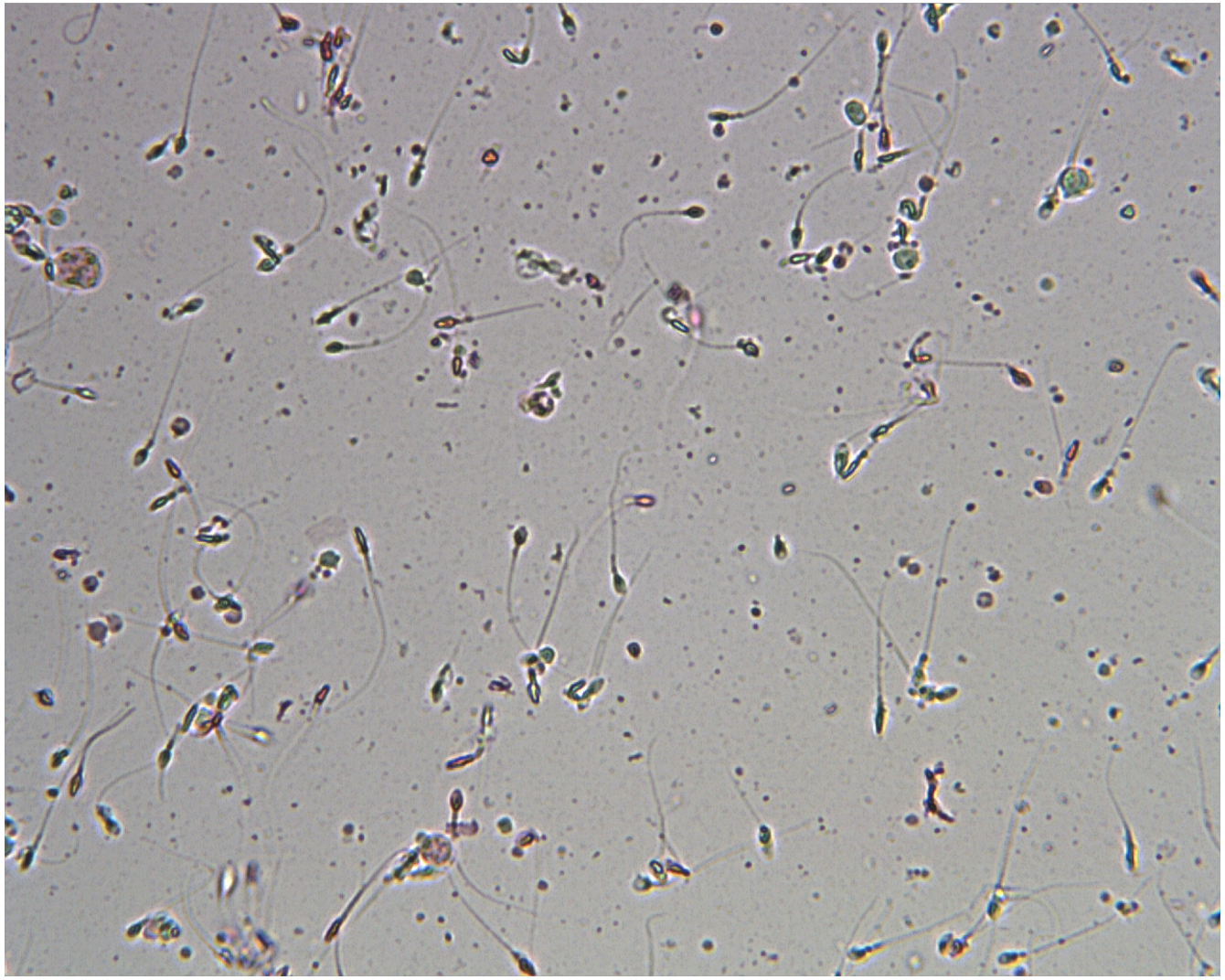




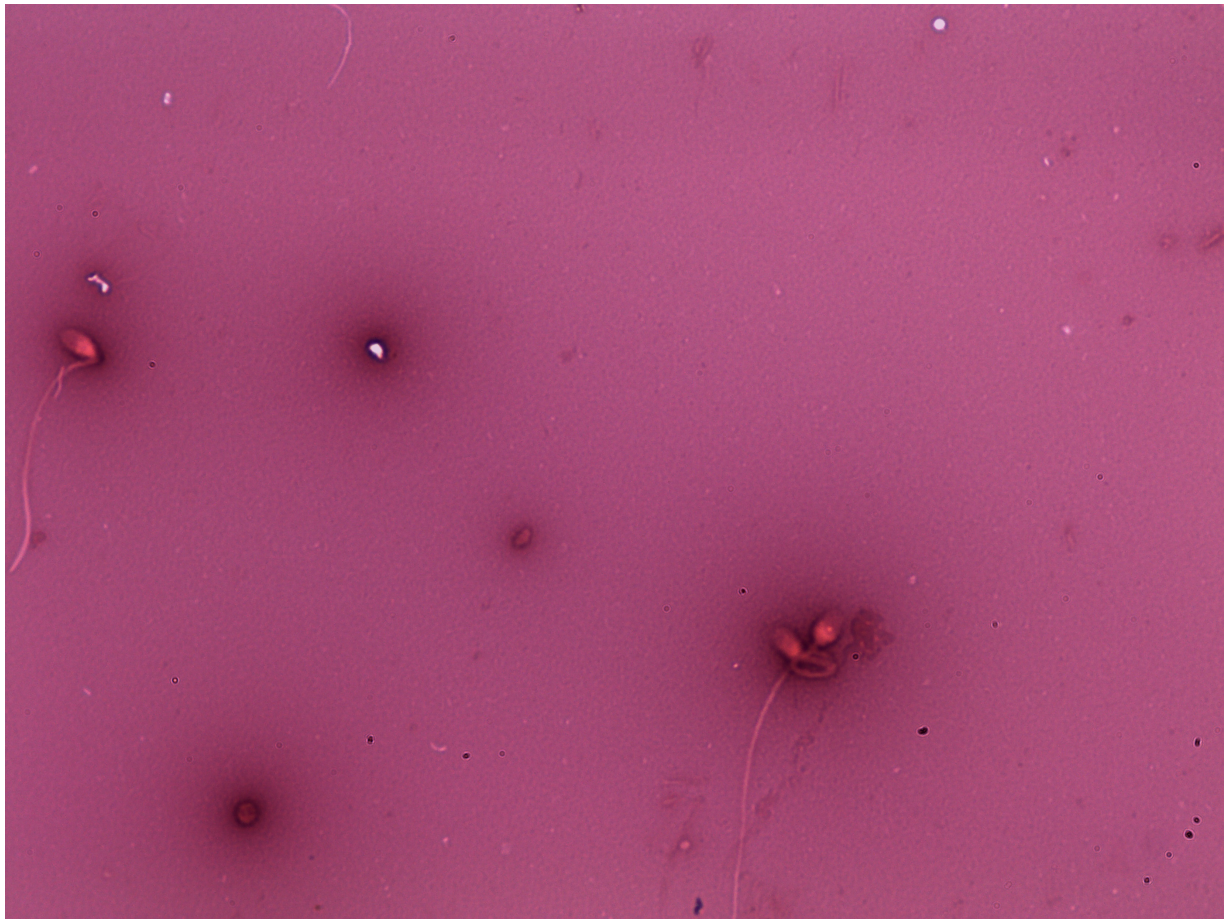


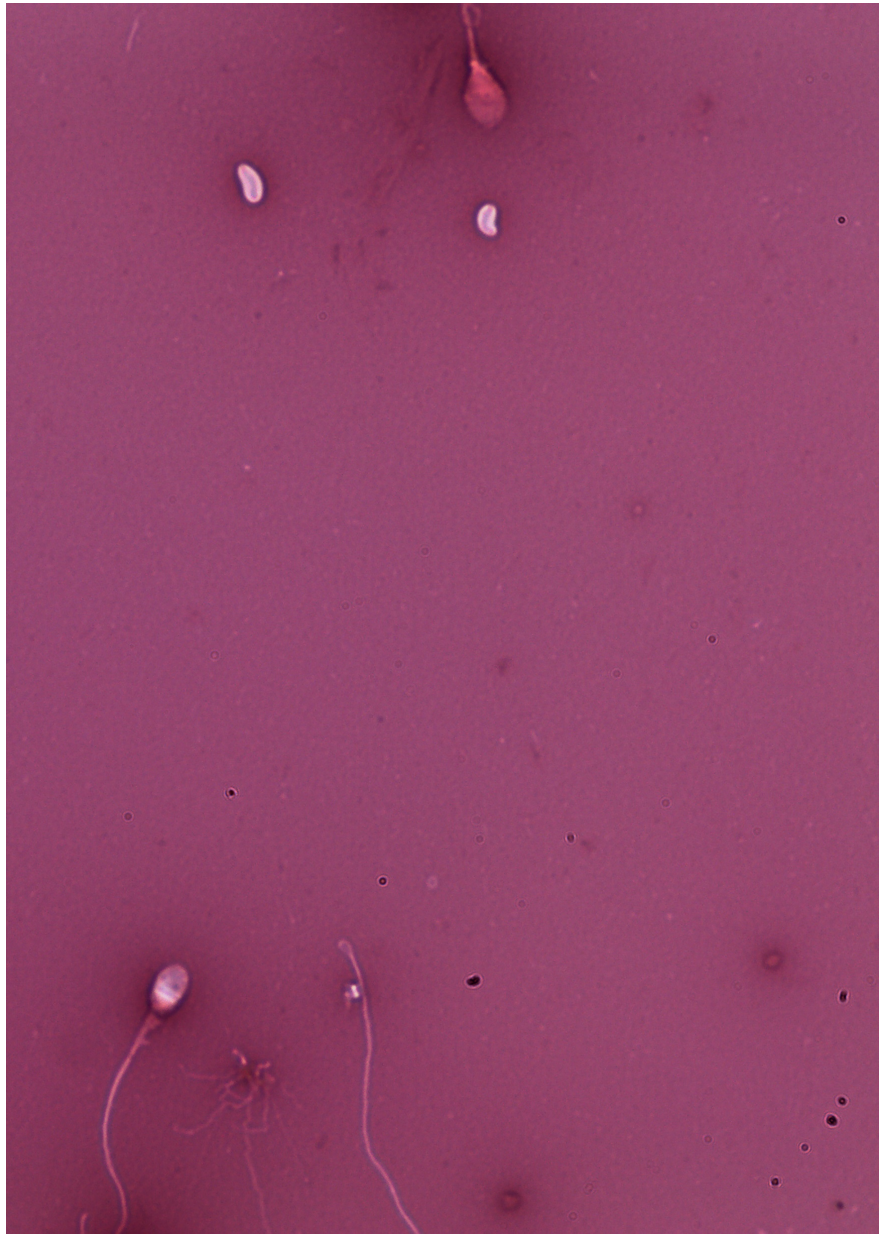


Vitalité au SQA vision par kit

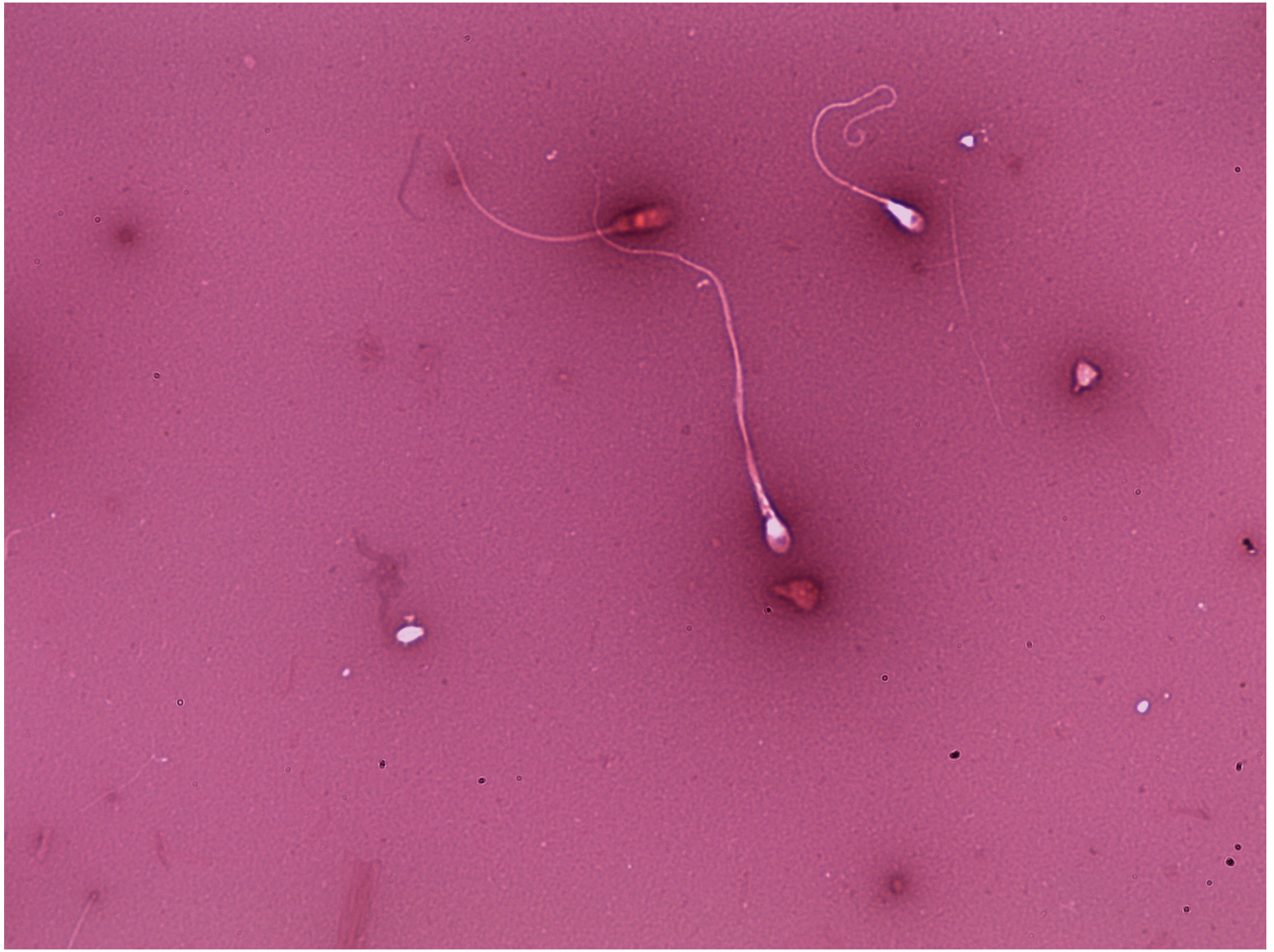


Vitalité au microscope

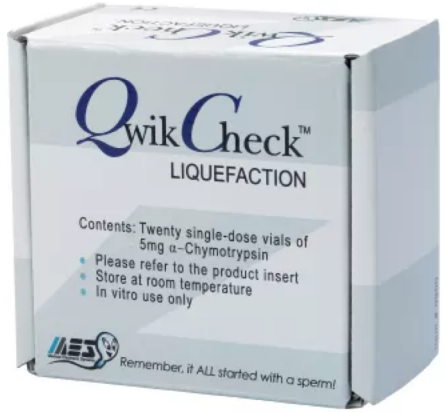




Vitalité au microscope



Qwick Check Liquefaction Kit



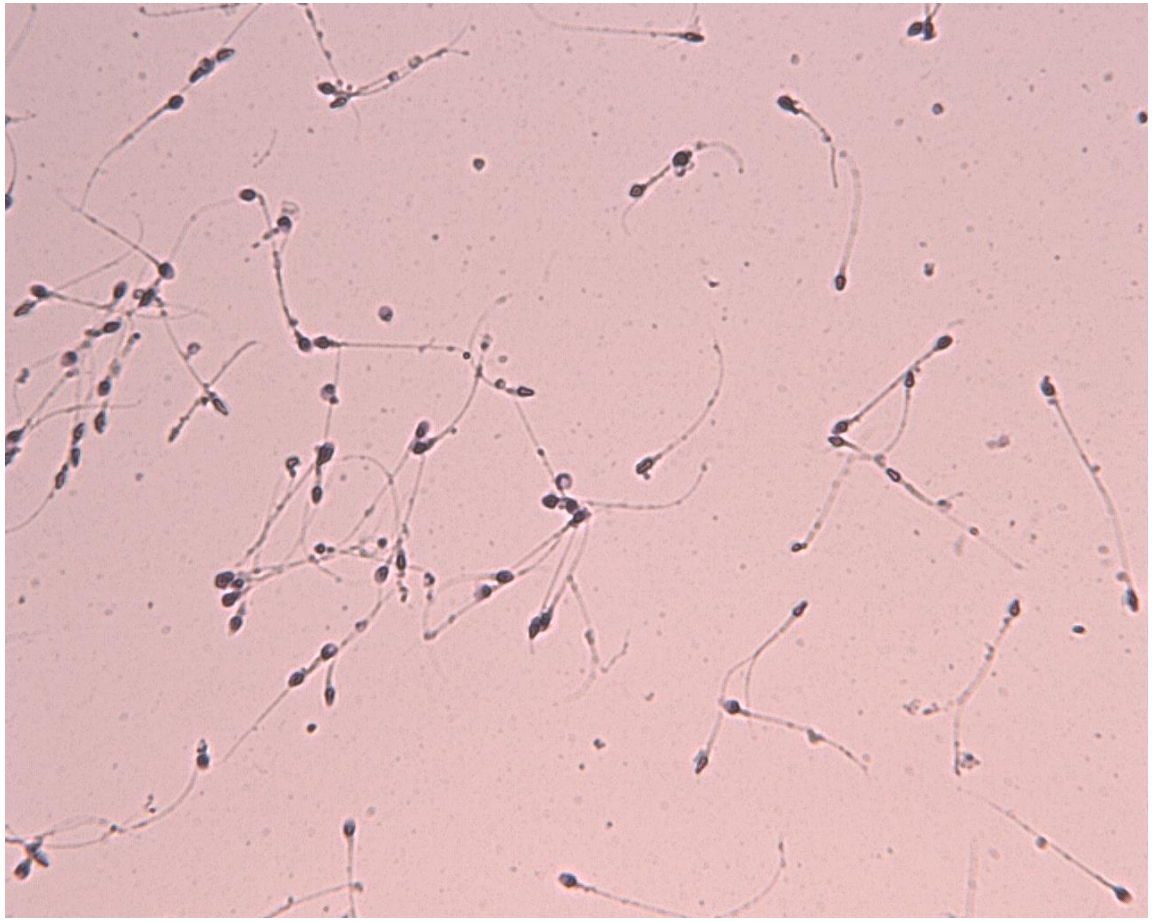
- Problème de liquéfaction:
  - Jusqu'à 10 % des cas
  - Dans notre cohorte: utilisation du Qwick Check Liquefaction

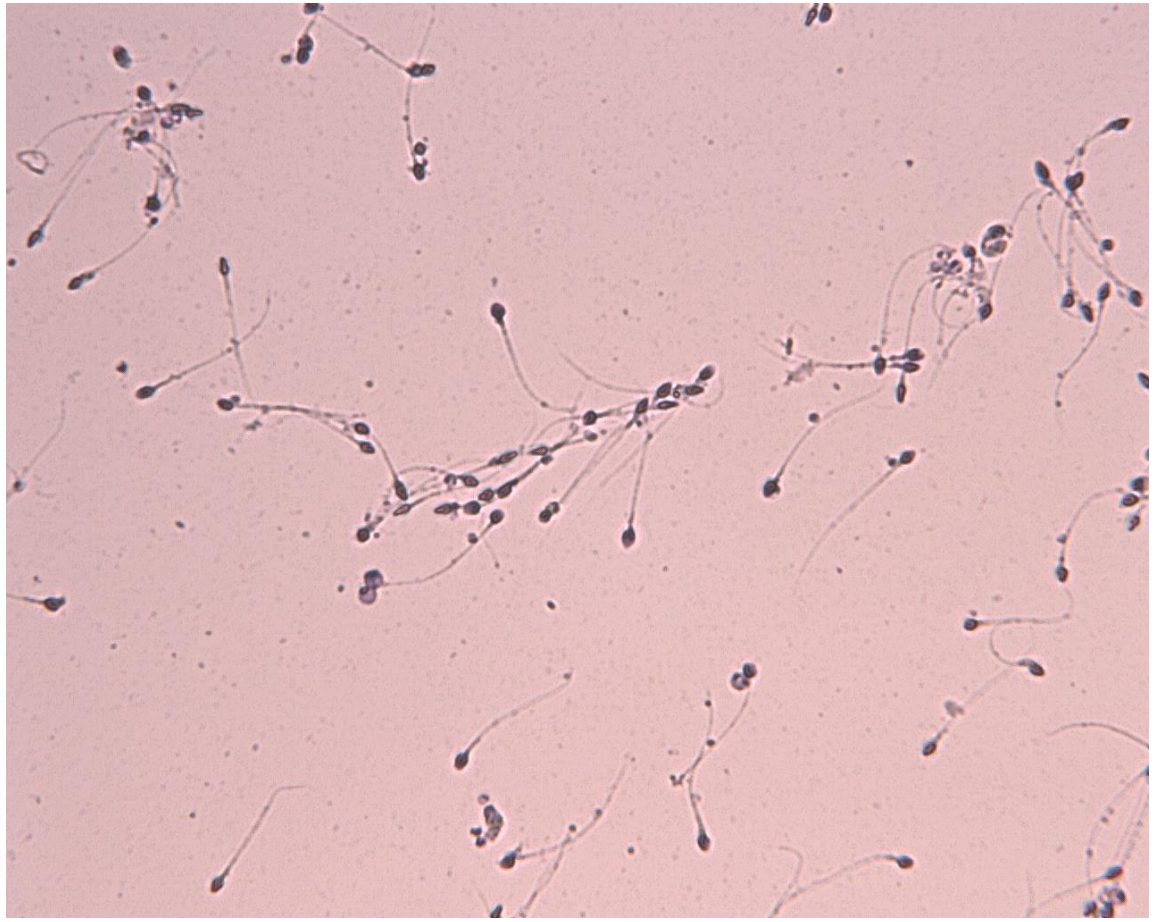
- Chymotrypsine
- Poudre à mettre en solution avec l'échantillon (1 ampoule pour 10 ml d'éjaculat)
- Agitation pendant 2 minutes puis laisser agir 5-10 minutes
- Excellents résultats

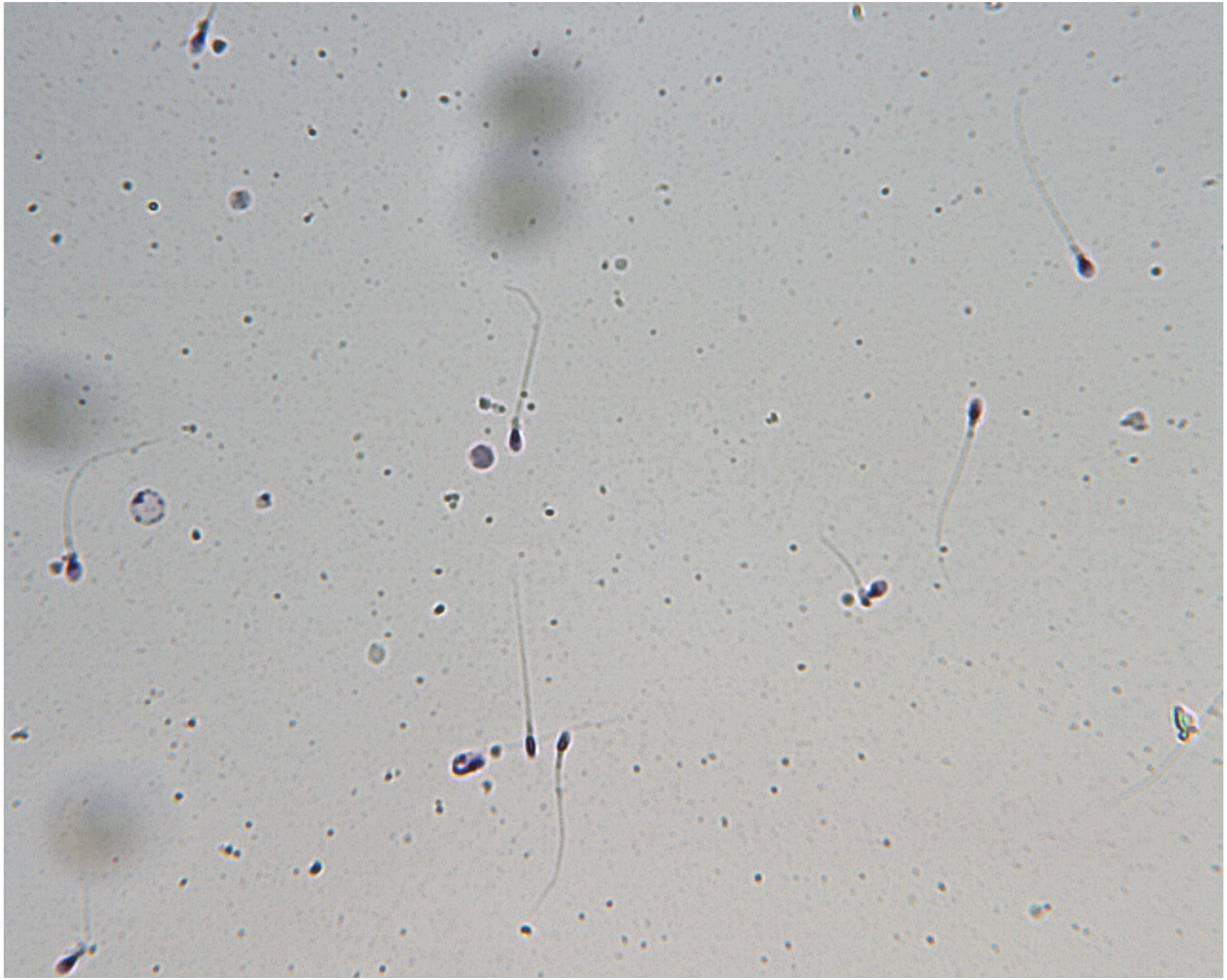
- Rappel procédés de liquéfaction :
  - Liquéfaction mécanique
  - Dilution
  - Digestion enzymatique

Evaluation des lames pré-colorées (CellVu)

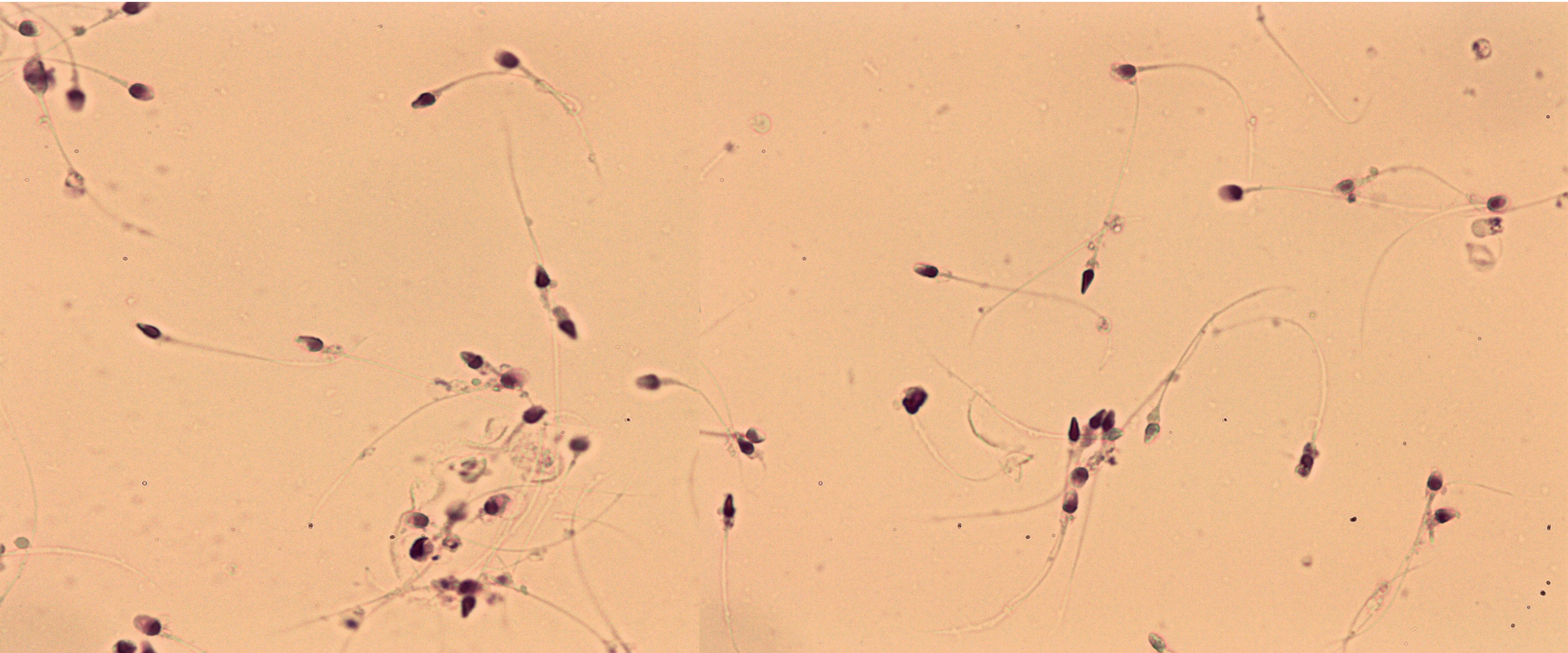
Lues au SQA vision

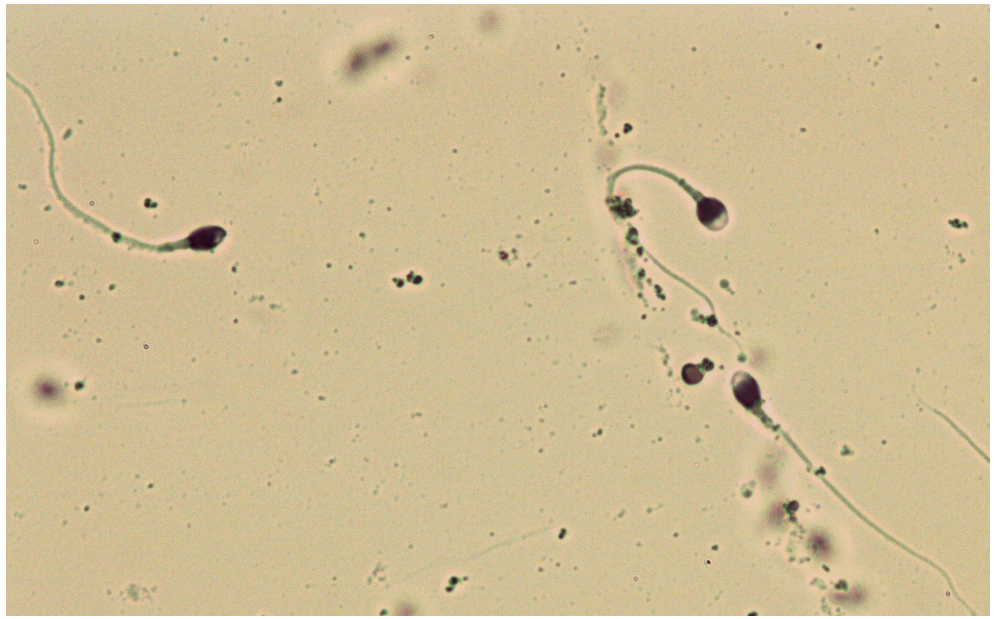






Lues au microscope optique





Etudes cliniques

- Evaluation SQA-V GOLD et CASA CEROS (Lammers 2013)
  - Meilleure précision (95% intervalle de confiance pour duplicats) : SQA-V GOLD
  - TAT pour analyse manuelle: 30-40 min
  - CASA : 10 minutes pour l'évaluation de la concentration et mobilité / 30 minutes pour l'évaluation morphologique
  - SQA-V : 1 minutes pour les échantillons normozoospermiques et 3-4 minutes pour échantillon de moins bonnes qualité

Table 1: SQA-V Performance Characteristics

Parameter Definition		Semen Parameters				
		Concentration		Motility	Morphology	
					WHO 3rd	WHO 4th
Sample type		Sperm	Beads	Sperm	Sperm	Sperm
Linearity	Slope	1.00	0.98			
	R	0.99	0.99			
	Deviation from Expected Values 10^6/ml	2.1	1.9			
Precision: CV %		3.1	< 0.01	5.1	4.6	6.6
Analytical Accuracy		0.9*	42.62 vs. 42.6+/-6.0 x 10^6/ml***	0.85*	0.66*	0.49*
		-2.8 x 10^6/ml**	20.76 vs. 20.8+/-2.9 x 10^6/ml***	-2.7%**	5.2%**	0.8%**
Clinical Accuracy	Sensitivity	97%		92%	94%	69%
	Specificity	93%		88%	75%	70%

Notes: *Correlation to Manual Method; **Bland-Altman plot: SQA-V-manual MEAN difference; ***Result vs. target range.

- L. Rabinovitch AAAC 2007

Automation is the key to standardized semen analysis using the automated SQA-V sperm quality analyzer

Ashok Agarwal, Ph.D., H.C.L.D.,[a,b] *and Rakesh K. Sharma, Ph.D.*[a,b]

- 50 hommes sains après 3 à 5 jours d'abstinence

TABLE 1

Comparison of automated SQA-V to first and second operator's results for sperm concentration and motility.

Method	Mean ± SD	Comparison	Intercept	Slope	95% CI of slope	Linearity
Concentration						
SQA-V	1.7334 ± 0.3165	SQA-V vs. first operator	0.1359	0.9412	0.8049–1.0833	$P>.10^a$
First operator	1.6910 ± 0.3091	SQA-V vs. second operator	0.0281	0.9870	0.9010–1.0625	$P>.10^a$
Second operator	1.7274 ± 0.2998	Second vs. first operator	0.1120	0.9500	0.8842–1.0366	$P>.10^a$
Motility						
SQA-V	1.7122 ± 0.0990	SQA-V vs. first operator	0.6337	0.6283	0.4286–1.0000	$P>.10^a$
First operator	1.7598 ± 0.1258	SQA-V vs. second operator	0.1110	0.9000	0.6316–1.3333	$P<.05$
Second operator	1.7922 ± 0.0933	Second vs. first operator	0.6300	0.6667	0.4839–0.9000	$P<.05$

Note: Passing-Bablok regression analysis was used; results were log transformed; SD = standard deviation; CI = confidence interval.
[a] No significant linear deviation.

Agarwal. SQA-V versus manual semen analysis. Fertil Steril 2007.

TABLE 2

Sperm morphology results comparing the automated SQA-V device versus manual results and the results between two operators.

Comparison	Sensitivity (%)	Specificity (%)	FP + FN cases	Agreement (kappa)
SQA-V vs. manual	88.90	50.00	11	0.416[a]
First vs. second operator	78.80	58.80	14	0.376[b]

Note: FP = false positive; FN = false negative.
[a] Moderate agreement.
[b] Fair agreement.

Agarwal. SQA-V versus manual semen analysis. Fertil Steril 2007.

TABLE 3

Coefficient of variation of automated SQA-V versus manual semen analysis results for sperm concentration, motility, and morphology and for the quality control for concentration.

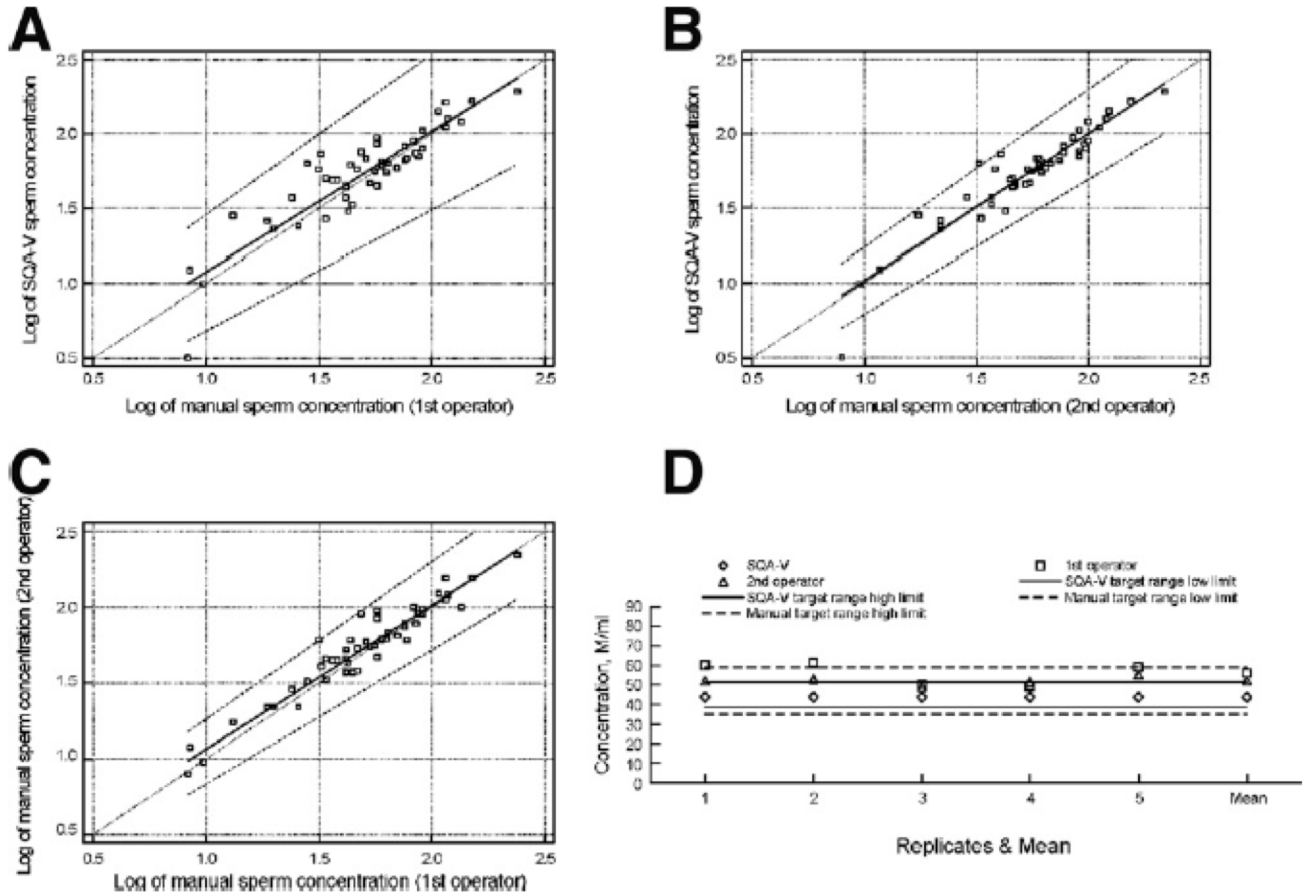
	CV (%)		
Variable	SQA-V	First operator	Second operator
Sperm concentration	1.4	6.0	5.1
Motility	2.5	5.7	5.4
MSC	2.4	7.9	7.9
Morphology	2.7	14.0	14.7
Quality control			
Control beads 1	0.0	10.4	4.4
Control beads 2	0.0	10.4	9.7

Note: CV = coefficient of variation; MSC = motile sperm count

Agarwal. SQA-V versus manual semen analysis. Fertil Steril 2007.

FIGURE 2

Passing-Bablok regression plots comparing automated (SQA-V) versus manual readings. (**A**) SQA-V analyzer versus first operator (mean ± SD values: 1.733 ± 0.316 and 1.691 ± 0.309 respectively), (**B**) SQA-V analyzer versus 2nd operator (mean ± SD values: 1.733 ± 0.316 and 1.727 ± 0.299, respectively), and (**C**) manual results of the first and second operator sperm concentration readings (mean ± SD values: 1.691 ± 0.309 and 1.727 ± 0.299 respectively. No significant linear deviation was observed ($P>.10$). (**D**) Accuracy and precision of the SQA-V analyzer and two independent operators using known concentration of control beads.



Agarwal. SQA-V versus manual semen analysis. Fertil Steril 2007.

Automated Semen Analysis – The end of Manual Analysis?

Emily ALLEN[1], Samantha LE[1], Simon COOKE[1]

[1]*IVF Australia, Sydney, New South Wales, Australia*

- Sur 100 échantillons frais

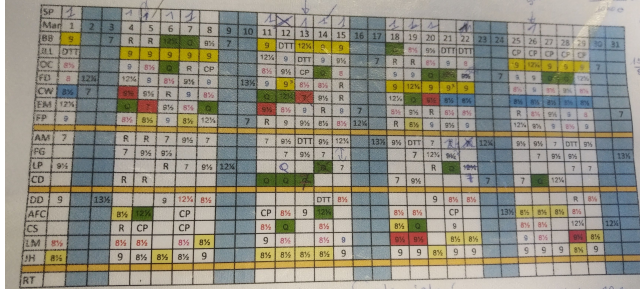
Semen Parameter	Mean		CV, %	
	Manual	SQA-V	Manual	SQA-V
Sperm Concentration, M/ml	60.0	63.0	12.8	2.3
PR Motility, %	58.3	38.7	6.4	4.9
Normal Morphology, %	4.9	10.7	29.9	7.3

Conclusion: This simple analysis methodology for concentration, motility and morphology, shows much lower CV than humans can count. Concentration is the only manual parameter similar to the automated system. Motility tends to be significantly over-estimated by manual methods, and morphology is confirmed to have the largest variation between operators. The ranges show that humans subconsciously have a low morphology reported range and higher motility range.

During a 75 second test the SQA-V Gold System demonstrates the best precision between the 2 analysis methods, can accurately count concentration, motility and concentration, and will count tens of thousands of sperm at the lower concentrations and millions at high concentrations, reducing the counting error compared to manual systems, where only 400 sperm may be counted.

	Moyenne	CV (%)
Morphologie normale %, manuelle	7,4	2,11
Morphologie normale %, automatique	8,1	2,41

Perspectives



- SQA-vision vu tâches assez basiques et simples permet d'ouvrir les horaires (≠ prise de rendez-vous)
- Intégrité de l'ADN: DNA integrated test
- Impact financier: (Etude du Overlook Medical Center, Atlanta; présenté à l'AACC 2011)
    - Réduction du TAT de 82 heures à 3 heures
    - Libération d'un 0,5 ETP
    - Coûts du laboratoire pour l'analyse de sperme réduit annuellement de 14 560$
    - Nombre de spermogramme fait en 2010: 161

Conclusions

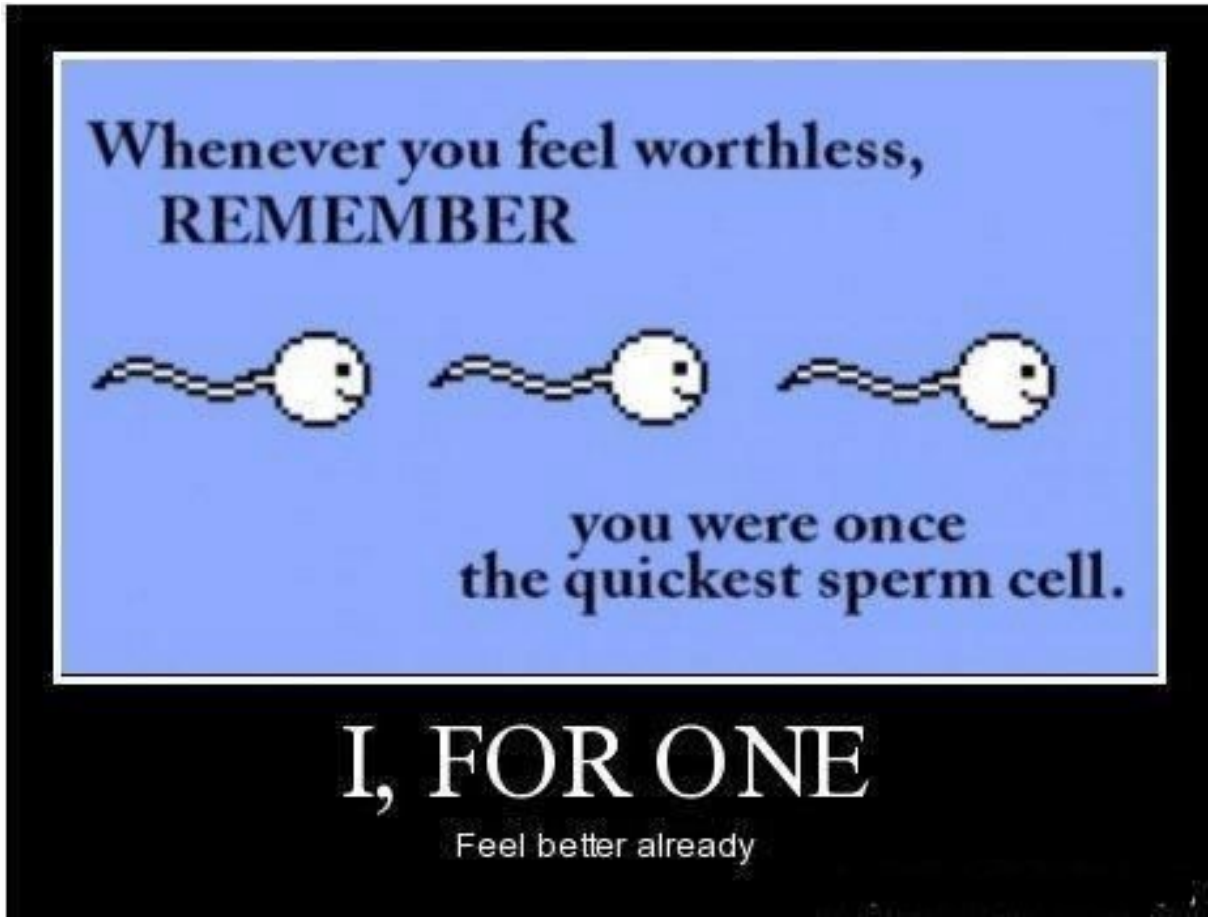
- Multiples avantages des automates de spermiologie
  - + rapides
  - Assistance informatique de l'analyse → réalisée sur un + grand nombre de cellules et donc + précis que comptage manuel (meilleurs CV)
  - Influence opérateur sur l'évaluation des cellules réduite

  ➔ Potentielle aide à la standardisation des spermogrammes
  - Archivage images et vidéos (aspect médico-légal)
  - Permet d'augmenter le nombre de spermogrammes réalisés au laboratoire

- Cependant formation à utilisation des automates doit être rigoureuse pour garder œil critique sur résultats rendus par automates

- Chaque laboratoire doit évaluer, selon son activité, le bénéfice apporté par ces systèmes par rapport au coût d'utilisation & définir le système le mieux adapté à ses besoins et attentes

Remerciements

- A Pierre Warmoes et Yves Decrem pour leurs conseils, collaboration et disponibilités
- A Laurence Rivain
- À toutes/tous les technologues du laboratoire et plus particulièrement du secteur hématologie (pour ce travail)
- Aux biologistes dont Madame Catherine Rosseels pour l'accompagnement dans le cadre de ce travail

Merci de votre attention!